

Aus der Abteilung für Veterinär-Pathologie,  
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA)/Universidade  
Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) Rio de Janeiro, Brasilien  
und aus dem Institut für Veterinär-Pathologie  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

**Vergleichende klinische und morphologische  
Untersuchungen zur spontanen und experimentellen  
Vergiftung durch *Ipomoea fistulosa* (Convolvulaceae)  
bei Ziegen**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades  
beim Fachbereich Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von  
**Anibal G. Armién M.**  
Tierarzt aus Panamá-Stadt

Gießen 2000

Aus der Abteilung für Veterinär-Pathologie,  
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária/ (EMBRAPA)/Universidade  
Federal Rural de Rio de Janeiro (UFRRJ) Rio de Janeiro, Brasilien  
und aus dem Institut für Veterinär-Pathologie  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Betreuer: Prof. Dr. K. Frese

**Vergleichende klinische und morphologische  
Untersuchungen zur spontanen und experimentellen  
Vergiftung durch *Ipomoea fistulosa* (Convolvulaceae)  
bei Ziegen**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades  
beim Fachbereich Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von  
**Anibal G. Armién M.**  
Tierarzt aus Panamá-Stadt

Gießen 2000

Mit Genehmigung des Fachbereiches Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

---

Dekan: Prof. Dr. Dr. h. c. H. Bostedt

1. Berichterstatter: Prof. Dr. K. Frese

2. Berichterstatter: Prof. Dr. G. Hummel

Tag der mündlichen Prüfung: 12.01.2000

Der Aufenthalt des Autors in der Bundesrepublik Brasilien während der Durchführung der experimentellen Arbeiten zu dieser Inaugural-Dissertation wurde von der Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro unterstützt.

Der Aufenthalt des Autors in der Bundesrepublik Deutschland während der Durchführung dieser Inaugural-Dissertation wurde vom Deutschen Akademischen Austauschdienst unterstützt.

Gedruckt mit Unterstützung des Deutschen Akademischen Austauschdienstes

Für

Carlos Hubinger Tokarnia

**INHALTSVERZEICHNIS**

1	EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG.....	1
2	LITERATURÜBERSICHT.....	3
2.1	<i>Ipomoea fistulosa</i> (Mart. ex Choisy) [= <i>Ipomoea carnea</i> subsp. <i>fistulosa</i> (Mart. ex Choisy) D. Austin].....	3
2.2	Intoxikation mit <i>Ipomoea fistulosa</i> in Brasilien.....	4
2.2.1	Spontanvergiftung.....	4
2.2.2	Experimentelle Vergiftung.....	5
2.3	Intoxikation mit <i>Ipomoea carnea</i> .....	5
2.3.1	Spontanvergiftung.....	5
2.3.1.1	Intoxikation mit <i>Ipomoea carnea</i> in Mozambique.....	6
2.3.2	Experimentelle Vergiftung.....	6
2.4	Toxine von <i>Ipomoea carnea</i> .....	9
2.4.1	Das Alkaloid Swainsonin.....	9
2.4.1.1	Wirkungsmechanismus von Swainsonin.....	10
2.4.1.1.1	Effekt von Swainsonin auf die Glykoproteinbildung.....	11
2.4.1.1.2	Effekt von Swainsonin auf den Glykoproteinabbau.....	15
2.4.2	Das Alkaloid Calystegin.....	17
2.5	Intoxikation mit den Pflanzen <i>Swainsona</i> spp., <i>Astragalus</i> spp. und <i>Oxytropis</i> spp. ....	18
2.6	Lysosomale Speicherkrankheiten.....	21
2.6.1	Lysosomale Speicherkrankheiten bei Haustieren.....	25
2.6.1.1	Genetische lysosomale Speicherkrankheiten bei Wiederkäuern	25
2.6.1.1.1	Sphingolipidosen.....	25
2.6.1.1.2	Glykoproteinosen.....	26
2.6.1.1.3	Glykogen-Typ II Speicherkrankheit.....	27
2.6.1.1.4	Zeroidlipofuszinose.....	28
2.6.1.2	Erworbene lysosomale Speicherkrankheiten bei Wiederkäuern..	28
2.6.1.3	Lysosomale Speicherkrankheiten bei Ziegen.....	29
3	EIGENE UNTERSUCHUNGEN.....	31
3.1	Material und Methoden.....	31

3.1.1	Spontane Erkrankung.....	31
3.1.1.1	Erhebung der Bestandsprobleme in der Gemeinde von Itaguaí-Rio de Janeiro, Petrolina-Pernambuco und Juazeiro-Bahia.....	31
3.1.1.2	Identifizierung der Pflanze.....	33
3.1.2	Experimentelle Untersuchungen.....	33
3.1.2.1	Versuchstiere.....	33
3.1.2.2	Versuchsdurchführung.....	34
3.1.2.2.1	Auswertung.....	34
3.1.2.3	Klinische Untersuchung und Versuchsablauf.....	35
3.1.2.4	Präparation der Organe für die histopathologischen, immun- histochemischen und histochemischen Untersuchungen.....	36
3.1.2.4.1	Entnahme der Organe.....	36
3.1.2.4.1.1	Untersuchung des Zentralnervensystems.....	37
3.1.2.4.2	Histopathologische Präparation.....	40
3.1.2.4.2.1	Auswertung.....	40
3.1.2.4.3	Immunhistochemische und lektinhistochemische Nachweisverfahren.....	41
3.1.2.4.3.1	Immunhistochemie.....	41
3.1.2.4.3.1.1	Seren und Antikörper.....	41
3.1.2.4.3.1.2	Durchführung der ABC-Methode.....	42
3.1.2.4.3.1.2.1	Besondere Verfahren.....	43
3.1.2.4.3.1.3	Immunzytochemische Kontrollen.....	44
3.1.2.4.3.1.4	Auswertung.....	45
3.1.2.4.3.2	Lektinhistochemie.....	45
3.1.2.4.3.2.1	Biotinylierte Lektine.....	45
3.1.2.4.3.2.2	Durchführung der ABC-Methode unter Verwendung biotinylierter Lektine.....	45
3.1.2.4.3.2.3	Lektinhistochemische Kontrollen.....	46
3.1.2.4.3.2.4	Auswertung.....	47
3.1.2.4.4	Transmissionselektronenmikroskopische Präparation.....	47

---

3.1.2.4.5	Statistische Auswertung.....	48
3.2	Ergebnisse.....	49
3.2.1	Spontane Vergiftung.....	49
3.2.1.1	Anamnese.....	49
3.2.1.2	Identifizierung der Pflanze.....	51
3.2.1.3	Klinische Symptome.....	51
3.2.1.4	Obduktionsbefunde, Histopathologie und Lektinhistochemie.....	52
3.2.2	Experimentelle Intoxikation.....	52
3.2.2.1	Dosis und Verlauf.....	52
3.2.2.1.1	Durchschnittliche Aufnahme von <i>Ipomoea fistulosa</i> (Dosis in Trocken-masse) und Verlauf vom ersten Versuchstag bis zum Tod der Tiere.....	53
3.2.2.1.2	Durchschnittliche Aufnahme von <i>Ipomoea fistulosa</i> (Dosis in Trockenmasse) und Verlauf vom ersten Versuchstag bis zum ersten Symptom.....	55
3.2.2.1.3	Durchschnittliche Aufnahme von <i>Ipomoea fistulosa</i> (Dosis in Trockenmasse) und Verlauf vom ersten Symptom bis zum Tod..	55
3.2.2.2	Klinische Untersuchung.....	55
3.2.2.2.1	Allgemeine Symptomatik.....	55
3.2.2.2.2	Neurologische Symptome.....	55
3.2.2.2.2.1	Bewußtseins- und Verhaltensstörungen.....	57
3.2.2.2.2.2	Bewegungsstörungen.....	58
3.2.2.2.2.3	Haltungs- und Stellreaktionen.....	59
3.2.2.2.2.4	Spinale Reflexe.....	61
3.2.2.2.2.5	Kopfnervenfunktionen.....	61
3.2.2.3	Obduktionsbefunde bei spontanen und experimenteller Vergiftung.....	63
3.2.2.4	Histopathologische Befunde bei spontanen und experimenteller Vergiftung.....	63
3.2.2.4.1	Veränderungen des Nervensystems.....	63
3.2.2.4.1.1	Zytopathologie.....	64
3.2.2.4.1.1.1	Neuronen.....	64

---

3.2.2.4.1.1.2	Astrozyten.....	65
3.2.2.4.1.1.3	Oligodendrozyten.....	65
3.2.2.4.1.2	Topographie und Kinetik der ZNS-Veränderungen.....	65
3.2.2.4.1.2.1	Spontane Vergiftung.....	66
3.2.2.4.1.2.2	Experimentelle Vergiftung.....	68
3.2.2.4.2	Veränderungen in anderen Organen.....	72
3.2.2.4.2.1	Spontane Vergiftung.....	72
3.2.2.4.2.2	Experimentelle Vergiftung.....	73
3.2.2.5	Lektinhistochemie.....	75
3.2.2.5.1	Experimentelle Vergiftung.....	75
3.2.2.5.2	Spontane Vergiftung.....	76
3.2.2.6	Transmissionselektronenmikroskopie.....	77
3.2.2.6.1	Zentralnervensystem.....	77
3.2.2.6.1.1	Neuronen.....	77
3.2.2.6.1.2	Gliazellen.....	78
3.2.2.6.1.3	Blutgefäße.....	79
3.2.2.6.1.4	Kinetik der elektronenmikroskopischen Befunde.....	79
4	DISKUSSION.....	81
4.1	Taxonomie und Toxine von <i>Ipomoea fistulosa</i> .....	81
4.2	Epizootologie und klinisches Bild.....	82
4.3	Pathologie.....	88
4.4	Korrelation zwischen neurologischer Symptomatik und histopathologischen ZNS-Veränderungen.....	98
5	ZUSAMMENFASSUNG.....	101
	SUMMARY.....	106
6	ABBILDUNGEN.....	110
7	LITERATURVERZEICHNIS.....	159
8	ANHANG.....	187
8.1	Tabellen.....	187
9	LÖSUNGEN, PUFFER, BEZUGSQUELLEN.....	207
9.1	Lösungen und Puffer.....	207
9.1.1	Immunfärbung.....	207

---

9.1.2	Transmissionselektronenmikroskopie.....	207
9.2	Bezugsquellen.....	209
9.2.1	Chemikalien.....	209
9.2.2	Antiserum.....	210
10	LISTE DER VERWENDENTEN ABKÜRZUNGEN.....	211

## 1 EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

Pflanzenvergiftungen sind neben der Tollwut und dem epizootischen Botulismus die wichtigste Todesursache bei adulten Rindern in Brasilien. Mehr als 100 000 Tiere sollen jährlich daran sterben (**TOKARNIA et al., 1995**). Dagegen ist über ihr Vorkommen und ihre ökonomische Bedeutung bei kleinen Wiederkäuern kaum etwas bekannt (**STOLF, 1986; ARMIÉN et al., 1993**).

Die Vergiftung durch *Ipomoea fistulosa* aus der Familie der Convolvulaceen ist in den Gemeinden Petrolina/Pernambuco und Juazeiro/Bahia im Tal des Flusses São Francisco schon seit dem Ende des letzten Jahrhunderts bekannt. Die Anzahl der jährlichen Erkrankungs- und Todesfälle sowie die Verluste durch eine reduzierte Gewichtszunahme und Reproduktionsstörungen sind zahlenmäßig zwar nicht bekannt, sollen aber bedeutend sein.

In den letzten Jahren mehren sich die Berichte über das Vorkommen von Vergiftungen mit *Ipomoea carnea* in tropischen Zonen Afrikas und Asiens. Meist handelt es sich um ärmere Regionen, in denen nur eine begrenzte extensive Landwirtschaft betrieben wird und die Ziegenhaltung eine wichtige Rolle spielt (**FAO, 1990**). Auch in ländlichen Gebieten im Nordosten Brasiliens, wo etwa 20 Millionen Menschen leben, dient sie als wichtige Eiweißquelle für die menschliche Ernährung. Elf Millionen Ziegen, das entspricht 90% der brasilianischen Ziegenpopulation, werden in diesem Teil des Landes gehalten (**IBGE, 1997**).

Die Vergiftung durch *Ipomoea fistulosa* und *Ipomoea carnea* ähnelt in der klinischen Symptomatik und in den pathomorphologischen Veränderungen den durch verschiedene Spezies von *Astragalus* und *Oxytropis* („Locoweed<sup>1</sup>“) und *Swainsona* verursachten Erkrankungen. Allein in den westlichen Staaten der USA ist der durch sie entstehende wirtschaftliche Schaden auf 100 Millionen Dollar pro Jahr geschätzt worden (**JAMES und NIELSEN, 1988**), soll aber wahrscheinlich sehr viel höher sein (**STEGELMEIER et al., 1999**).

---

<sup>1</sup> „Loco is a spanish word for crazy, that over a century has been used by North Americans to describe poisoned animals and the plants that poisoned them.“ (**STEGELMEIER et al., 1999**)

Die neurologischen Symptome dieser Erkrankungen werden durch das Alkaloid Swainsonin ausgelöst, das ein potenter Inhibitor der lysosomalen  $\alpha$ -Mannosidase und der Golgi  $\alpha$ -Mannosidase II ist und über die Hemmung der ersteren zu einer systemischen Erkrankung mit einer lysosomalen Speicherung von mannosereichen Oligosacchariden führt. Damit ähneln diese Vergiftungen den genetischen  $\alpha$ -Mannosidasen beim Menschen und bei Haustieren und haben deshalb auch für die Erforschung dieser Krankheiten wichtigen Modellcharakter gewonnen (**JOLLY und WALKLEY, 1997**).

Erst kürzlich wurde dieses Toxin auch aus *Ipomoea carnea* bzw. *Ipomoea fistulosa* isoliert (**DE BALOGH et al., 1999; MOLYNEUX, 1999**). Obwohl die Toxizität von *Ipomoea fistulosa* aus experimentellen Untersuchungen schon länger bekannt ist (**TOKARNIA et al., 1960**), liegen bisher nur wenige Kenntnisse über das klinische Krankheitsbild und die Pathologie der *Ipomoea*-Vergiftung vor. In einer neueren Übersicht über vergleichende Aspekte lysosomaler Speicherkrankheiten wird sie noch nicht erwähnt (**JOLLY und WALKLEY, 1997**).

Aufgabe der vorliegenden Arbeit sollte es daher zunächst sein, anhand von Fällen eines epizootischen Ausbruchs der *Ipomoea*-Vergiftung bei Ziegen im Tal des Flusses São Francisco die klinische Symptomatik, insbesondere die neurologischen Krankheitserscheinungen zu analysieren und die morphologischen Veränderungen zu beschreiben. In einem experimentellen Ansatz sollte die Erkrankung durch Verfütterung unterschiedlicher Mengen von *Ipomoea fistulosa* induziert werden. Dabei sollte die Kinetik der Entwicklung der verschiedenen neurologischen Ausfallserscheinungen verfolgt und mit der Topographie und der Art der neuropathologischen Veränderungen verglichen werden. Insbesondere sollte auch versucht werden, durch lektinhistochemische Untersuchungen die Natur der lysosomal gespeicherten Oligosaccharide zu bestimmen.

## 2 LITERATURÜBERSICHT

### 2.1 *Ipomoea fistulosa* (Mart. ex Choisy) [= *Ipomoea carnea* subsp. *fistulosa* (Mart. ex Choisy) D. Austin]

Nach **AUSTIN und HUÁMAN (1996)** existieren ca. 600-700 Pflanzenarten des Genus *Ipomoea*, die zu der Familie der Convolvulaceae gehören. Möglicherweise gibt es aber noch weitere Spezies dieser Taxa oder dieses Genus, die noch nicht beschrieben wurden. 339 Taxa, 327 Spezies, 5 Varietäten und 5 Subspezies stammen aus Amerika.

Die Spezies *Ipomoea fistulosa* wurde in Brasilien beschrieben (**FALCÃO, 1968; AUSTIN, 1977**). Nach Meinung von **AUSTIN (1977)** handelt es sich dabei um die subsp. *fistulosa* von *Ipomoea carnea*.

Die Zuordnung von *Ipomoea carnea* (**Jacq., 1763**) und *Ipomoea fistulosa* (**Mart. ex Choisy, 1869**) zu unterschiedlichen Spezies verursachte große Konfusionen. Nach dem Studium der Originalliteratur kam **AUSTIN (1977)** zu dem Schluß, daß die Kriterien für die Klassifikation von *Ipomoea carnea* und *Ipomoea fistulosa* als zwei unterschiedliche Spezies nicht erfüllt werden und es sich vielmehr um eine komplexe Pflanzenpopulation mit geringen morphologischen Unterschieden handelt, die sich an unterschiedliche Habitate angepaßt hat. **AUSTIN (1977)** erkannte sie daher als eine Spezies an und ordnete beide unter dem Namen *Ipomoea carnea* mit den Subspezies *Ipomoea carnea* subsp. *carnea* [(**Jacq.**) **D. Austin**] und *Ipomoea carnea* subsp. *fistulosa* [(**Mart. ex Choisy**) **D. Austin**] ein. *Ipomoea carnea* subsp. *carnea*, die in Trockengebieten besonders in Zusammenhang mit Dornstrauchvegetation beobachtet wird, charakterisiert sich durch herzförmige bis rundliche Blätter. *Ipomoea carnea* subsp. *fistulosa* wird in Feuchtgebieten beobachtet, besonders am Rand von Stauseen, Seen und Flüssen und ist durch oval-längliche Blätter gekennzeichnet.

*Ipomoea carnea* subsp. *carnea* und *Ipomoea carnea* subsp. *fistulosa*, die beide aus Amerika stammen, sind in tropischen und subtropischen Gebieten weltweit verbreitet (**AUSTIN, 1977; AUSTIN und HUÁMAN, 1996**). In Afrika, Asien und

Australien gehört *Ipomoea carnea* nicht zu der natürlichen Pflanzenpopulation, sondern wurde als Zierpflanze importiert und verwilderte später (**IDRIS et al., 1973; DE BALOHG et al., 1999**).

## **2.2 Intoxikation mit *Ipomoea fistulosa* in Brasilien**

### **2.2.1 Spontanvergiftung**

In Brasilien ist *Ipomoea fistulosa* unter den Namen "algodão-bravo", "canudo", "capa-bode" und "manjorana" bekannt. Man findet sie in großer Anzahl am Amazonas, im Nordosten und im Pantanal von Mato Grosso, in temporären Überschwemmungsgebieten, am Rand von Flüssen und Seen (**TOKARNIA et al., 1960, 1979**). Daten über die Toxizität für Wiederkäuer stammen aus dem letzten Jahrhundert (**FREIRE ALEMÃO, 1884 zit. nach ALMEIDA COSTA, 1948**). Im Nordosten, besonders im Tal des Flusses São Francisco und im Süden der Provinz Piauí spielen Vergiftungen mit *Ipomoea fistulosa* eine große Rolle. In Dürrezeiten, wenn Futtermittel knapp werden, kommt es aus Hunger zur Aufnahme der immergrünen und in großen Mengen vorhandenen *Ipomoea fistulosa* (**NEIVA und PENNA, 1916; MACEDO, 1952; SCHMIDT und GONÇALVES LINS, 1956; TOKARNIA et al., 1979**). **SCHMIDT und GONÇALVES LINS (1956)** zufolge entwickeln die Tiere eine Abhängigkeit. Betroffene Spezies sind Ziegen, Schafe und Rinder (**FREIRE ALEMÃO, 1884; NEIVA und PENNA, 1916; HOEHNE, 1939; MACEDO, 1952; SCHMIDT und GONÇALVES LINS, 1956; TOKARNIA et al., 1960**), die nur dann erkranken, wenn sie die Pflanze in großen Mengen und über einen langen Zeitraum aufnehmen (**TOKARNIA et al., 1960**). Ziegen zeigen nach zweiwöchiger Aufnahme die ersten Symptome (**MACEDO, 1952**). Die Symptome bei allen Spezies sind durch Abmagerung und einen "betrunkenen Zustand" charakterisiert (**FREIRE ALEMÃO, 1884; NEIVA UND PENNA, 1916; MACEDO, 1952**). Die Tiere sterben nach 30-45 Tagen (**SCHMIDT und GONÇALVES LINS, 1956**). Nach Unterbrechung der Pflanzenaufnahme können sich die Tiere erholen (**NEIVA und PENNA, 1916**).

## 2.2.2 Experimentelle Vergiftung

In einem Experiment von **TOKARNIA et al. (1960)** an drei Rindern, fünf Schafen und zwei Ziegen wurde *Ipomoea fistulosa* als ausschließliches Futtermittel gegeben. Die Ziegen zeigten motorische Störungen, die sich in einem breitbeinigen Gang, Inkoordination und Hinterhandschwäche äußerten. Eine Ziege starb 38 Tage nach Versuchsbeginn, nachdem sie drei Tage Symptome gezeigt hatte. Die zweite Ziege wies nach 46 Tagen Symptome auf, nach 58 Tagen wurde die Pflanzenaufnahme beendet. Das Tier zeigte bis zu seinem Tod ein Jahr und sieben Monate nach Beendigung des Experiments Inkoordination. Bei den Schafen fanden sich Anorexie, Apathie und Verlangsamung der Bewegung. Erste Symptome traten zwischen 2 und 14 Tagen nach Beginn der Fütterung mit *Ipomoea fistulosa* auf, Todesfälle nach 29 bis 81 Tagen. Die Rinder zeigten progressive Gewichtsabnahme, Verlangsamung der Bewegungen und ein trockenes Haarkleid. Ein Rind wurde am 90. Tag moribund euthanasiert. Die anderen beiden Rinder erholten sich innerhalb von 96 Tagen nach Abbruch des Experiments. Die sogenannte Abhängigkeit (**SCHMIDT und GONÇALVES LINS, 1956**) wurde nicht beobachtet, die Tiere bevorzugten, wenn es angeboten wurde, immer frisches Gras. Bei der Sektion der Tiere wurden keine pathologisch-anatomischen Veränderungen festgestellt. Pathologisch-histologisch fand **TOKARNIA (1992, unveröffentlicht)** eine neuronale Vakuolisierung in verschiedenen Lokalisationen des ZNS.

## 2.3 Intoxikation mit *Ipomoea carnea*

### 2.3.1 Spontanvergiftung

Das Vorkommen von Spontanvergiftungen bei Tieren nach Aufnahme von *Ipomoea carnea* wurde im Sudan (**IDRIS et al., 1973**), in Indien (**TIRKEY et al., 1987**) und Mozambique (**DE BALOHG et al., 1998**) beschrieben. In diesen Ländern spielen vor allem Vergiftungen bei Ziegen eine Rolle. Ein prädisponierender Faktor ist Futtermangel aufgrund langer Dürreperioden. Die wirtschaftlichen Verluste, die diesen Ländern durch die Vergiftungen entstehen, sind schwerwiegend. Eine

klinisch-pathologische Beschreibung der natürlich auftretenden Vergiftung durch *Ipomoea carnea* bei Ziegen liegt aus Mozambique vor (**DE BALOHG et al., 1998, 1999**).

### 2.3.1.1 Intoxikation mit *Ipomoea carnea* in Mozambique

Ein Vergiftungsausbruch durch *Ipomoea carnea* (*Ipomoea carnea* subsp. *fistulosa*) bei Ziegen in Mozambique wurde von **DE BALOHG et al. (1999)** beschrieben. Dabei starben ca. 10% der betroffenen Ziegenpopulation innerhalb eines Jahres (1994). Durch den zu dieser Zeit in der Region stattfindenden Bürgerkrieg waren die Weidegebiete eingeschränkt. Außerdem war durch die jährliche Dürreperiode *Ipomoea carnea*, die als immergrüne Pflanze zur Begrenzung der Weideflächen angepflanzt wurde, die einzige zur Verfügung stehende Futterquelle. Von der Vergiftung waren Ziegen aller Altersstufen unabhängig vom Geschlecht betroffen. Klinisch zeigten die Tiere Ataxie, einen Gang mit kurzen, steifen Schritten, Tremor des Kopfes, Nystagmus und Hyperästhesie. Es bestand keine Anorexie. Die Symptome verstärkten sich langsam bis hin zu einem Unvermögen zur Futteraufnahme und Fortbewegung. Der Tod trat einige Wochen nach Beginn der Symptome ein. Einige der Tiere erholten sich. Bei der Sektion wurden bei einer Ziege eine Stauung der Meningealgefäße sowie ein Ödem der Lumbalsegmente des Rückenmarks gefunden, eine andere Ziege zeigte eine Asymmetrie und Atrophie des Kleinhirns. Die histologische Untersuchung ergab eine Vakuolisierung der Neuronen des ZNS, einen Verlust von Purkinje- und Körnerzellen, eine Astrogliose und eine axonale Degeneration. Zusätzlich bestand eine Vakuolisierung der Tubulusepithelien in der Niere und der Makrophagen in Milz und Lymphknoten.

### 2.3.2 Experimentelle Vergiftung

**IDRIS et al. (1973)** führten experimentelle Untersuchungen mit *Ipomoea carnea* bei Ziegen im Sudan durch. Sie verabreichten 1,36 kg grüne Blätter/Tier/Tag. Die ersten Symptome wurden 5-6 Wochen nach Beginn des Experiments beobachtet.

Symptome waren allgemeine Schwäche, Tremor, Parese der Hintergliedmaßen und Paralyse. Der Tod trat nach 25 Tagen ein. Histologisch wurden herdförmige Lebernekrosen und zerebrale Stauung festgestellt. **ADAM et al. (1973)**, **TARTOUR et al. (1974)** und **DAMIR et al. (1987)** induzierten eine Vergiftung bei Ziegen mit täglichen Dosen von 5-10g grünen Blättern/kg Körpermasse (KM) und von 5 g trockenen Pflanzen/kg KM. Diese Tiere starben zwischen 15 bis 121 Tagen nach Beginn der Fütterung. Sie zeigten Anorexie, Dyspnoe, Anämie, Apathie, Tremor, Gleichgewichtsstörungen, breitbeinige Stellung, Schwäche, hochgradige Parese der Hintergliedmaßen und Dekubitus. Klinisch-pathologisch fanden sich eine normozytäre normochrome Anämie, eine geringgradige Erhöhung der Aspartataminotransferase, ein Anstieg der Ammoniumkonzentration im Serum sowie eine Erniedrigung des Protein-, Kalzium- und Magnesiumgehaltes (**ADAM et al., 1973; DAMIR et al., 1987**). Bei der Sektion wurden Stauung und Blutungen in verschiedenen Organen sowie Flüssigkeitsansammlung in den Körperhöhlen beobachtet. Histologisch fanden sich eine zentrolobuläre Verfettung, fokale Nekrosen und eine portale Fibrosierung in der Leber. Die Nieren wiesen degenerativ-nekrotisierende Veränderungen der Tubulusepithelien auf. Weiterhin fanden sich ein Lungenödem und herdförmige Emphyseme. **ADAM et al. (1973)** und **DAMIR et al. (1987)** beschreiben ähnliche Veränderungen bei Schafen. Dagegen zeigen Rinder lediglich Anorexie und Schwäche (**ADAM et al., 1973**).

**TIRKEY et al. (1987)** induzierten in Indien eine Vergiftung mit *Ipomoea carnea* bei drei Ziegen mit Körpergewichten zwischen 10,5 bis 13 kg durch Verabreichung von 0,5 kg der frischen Pflanze pro Tag. Die Tiere starben nach 3, 27 und 55 Tagen. Die Vergiftungssymptome waren Apathie, Gleichgewichtsstörungen, Schwäche und Paralyse der Hintergliedmaßen. Histologisch wurden Vakuolisierung der renalen Tubulusepithelien, vakuoläre Degeneration von Hepatozyten, Hypertrophie von Kupfferschen Sternzellen sowie neuronale Degeneration und eine Wallersche Degeneration des Nervus ischiadicus festgestellt.

**ZAKIR et al. (1989)** erzeugten eine Intoxikation mit 1,25 und 2,5 g/kg KM/Tag der Trockenpflanze und fanden eine Erhöhung der Harnstoffwerte im Serum sowie eine Hypokalzämie und Hypophosphatämie. **SRILATHA et al. (1993 a, b)** induzierten

eine Vergiftung mit 5 und 50 g der Pflanze/kg KM/Tag. Die Tiere starben zwischen 15 und 103 Tagen nach Beginn der Verabreichung. Diese Autoren beschreiben eine frühe Manifestation der Symptome mit nachfolgenden akuten Todesfällen zwischen dem 15. und 70. Tag nach Beginn der Pflanzenaufnahme und eine späte Manifestation mit nachfolgenden Todesfällen nach 93 Tagen. Die klinischen Symptome in der akuten Verlaufsform traten nach 18 bis 20 Tagen auf und waren durch Somnolenz, Diarrhoe, Dyspnoe, torkelnden Gang und Paralyse, zuerst der Hintergliedmaßen und nachfolgend der Vordergliedmaßen, gekennzeichnet. Bei der chronischen Verlaufsform zeigten die Tiere ab dem 45. Tag Anorexie, Apathie und Verlangsamung der Bewegungen. Später traten Tremor des Kopfes, Schwäche, Gleichgewichtsstörungen, Versteifung der Gliedmaßen, Muskelspasmen, Dekubitus und Koma hinzu. Desweiteren zeigten die Tiere eine Erniedrigung des Proteingehaltes im Serum und eine Erhöhung der Aspartataminotransferase.

In einer weiteren Studie induzierten **NATH und PATHAK (1995, 1996)** eine Intoxikation mit 5 und 10 g/kg KM/Tag. Fünf der Tiere starben zwischen 14 und 17 Tagen nach Beginn der Pflanzenaufnahme, die übrigen Tiere wurden am 32. Tag euthanasiert. Die Symptome wurden innerhalb der ersten Minuten nach Verabreichung bis über 24 Stunden beobachtet. Die beschriebenen Symptome, die hämatologischen Befunde, sowie die histopathologischen Veränderungen ähneln denen anderer Autoren.

**DE BALOHG et al. (1999)** lösten die Intoxikation mit *Ipomoea carnea* (*Ipomoea carnea* subsp. *fistulosa*) bei drei Ziegen aus. Sie machen jedoch keine Angaben über die verabreichte Menge. Die Tiere wiesen nach einer Woche eine Reduktion der Körpergewichte auf. Die ersten Symptome traten ab dem 39. Tag nach Beginn der Pflanzenaufnahme auf. Ein Tier verstarb spontan am 89. Tag, das zweite Tier wurde am 72. Tag euthanasiert, und das dritte starb aufgrund einer Tympanie am 74. Tag. Die Gehalte an Aspartataminotransferase und der Gesamtproteingehalt des Serums variierten. Die Laktatdehydrogenase und Kreatinkinase waren bei einem Tier erhöht, die Harnstoffwerte waren bei zwei Tieren geringgradig erhöht. Bei der Sektion wurde bei einem Tier ein mittelgradiges Hydroperikard, ein Rückenmarksödem und eine Stauung der

Meningealgefäße festgestellt. Zwei Tiere zeigten ein mittelgradiges Hirnödem. Histologisch fanden sich die gleichen Veränderungen wie bei der natürlichen Intoxikation. Ultrastrukturell beschreiben **DE BALOGH et al. (1999)** optisch leere Vakuolen, die von einer einfachen Membran begrenzt wurden und Membranfragmente, sowie amorphes und granuläres Material enthielten.

## 2.4 Toxine von *Ipomoea carnea*

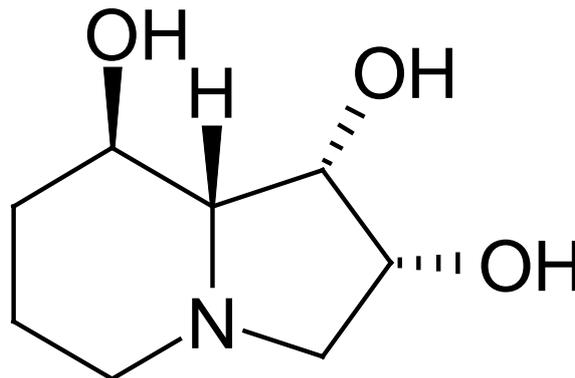
**DE BALOGH et al. (1999)** isolierten kürzlich aus *Ipomoea carnea* (*Ipomoea carnea* subsp. *fistulosa*), die aus Mozambique stammte, die Alkaloide Swainsonin und Calystegin B<sub>2</sub> und C<sub>1</sub>. Es erfolgte jedoch keine quantitative Bestimmung der Substanzen. Nach Meinung dieser Autoren verursacht die Aufnahme der Pflanze bei Ziegen eine  $\alpha$ -Mannosidose.

Die Koexistenz von Swainsonin und Calystegin, zwei Alkaloiden, die unterschiedlichen Gruppen angehören, wurde zum erstenmal von **MOLYNEUX et al. (1995)** bei Convolvulaceae *Ipomoea* sp. Q6 (*Aff calobra*) beschrieben. Die gemeinsame toxische Wirkung von Swainsonin und Calystegin auf den Organismus ist jedoch noch wenig erforscht.

### 2.4.1 Das Alkaloid Swainsonin

Swainsonin ist ein Indolizidinrihydroxyl-Alkaloid, das erstmalig von **COLEGATE et al. (1979)** aus *Swainsona canescens* isoliert wurde. Danach isolierten **MOLYNEUX and JAMES (1982)** Swainsonin aus *Astragalus lentiginosus* (Abb.1).

**Abb. 1: Molekülstruktur von Swainsonin (COLEGATE et al.,1979)**  
**8 $\alpha$**  $\beta$ -Indolizidin-1 $\alpha$ ,2 $\alpha$ ,8 $\beta$ -triol, MW=173.1



#### 2.4.1.1 Wirkungsmechanismus von Swainsonin

In der tierischen Zelle gibt es verschiedene  $\alpha$ -D-Mannosidasen, die  $\alpha$ -Mannosereste von nicht-reduzierenden Endungen von *N*-glykosidisch gebundenen Oligosacchariden abspalten (**THOMAS und BEAUDET, 1995**):

- Die ER-Mannosidase und die Golgi  $\alpha$ -Mannosidasen I und II sind für „trimming“ und Umbau von Oligosaccharidketten zuständig. Die  $\alpha$ -Mannosidase-I hat ihr Wirkungsoptimum im neutralen Bereich, während die  $\alpha$ -Mannosidase-II in einem intermediären pH-Bereich optimal wirkt.
- Die lysosomale  $\alpha$ -Mannosidase ist für den Abbau von Glykoproteinen zuständig und hat ihr Wirkungsoptimum im sauren pH-Bereich.
- Die zytoplasmatische  $\alpha$ -Mannosidase, deren Funktion noch nicht geklärt ist, wirkt optimal im neutralen pH-Bereich.

Das Alkaloid Swainsonin ist ein potenter Inhibitor der Golgi  $\alpha$ -Mannosidase II und der lysosomalen  $\alpha$ -Mannosidase (**DORLING et al., 1980; TULSIANI und TOUSTER, 1982**). Die Hemmung dieser Enzyme führt einerseits zur Bildung

anormaler Glykoproteine und andererseits zur lysosomalen Speicherung mannosereicher Oligosaccharide (**TULSIANI et al., 1988, 1989; ELBEIN, 1989; HANKOCK, 1989**). Die Aufnahme der Alkaloide verursacht ein Krankheitsbild, das der erblichen  $\alpha$ -Mannosidose ähnelt (**DORLING et al., 1978; DORLING et al., 1980**), aber wegen der zusätzlichen Blockade der Golgi  $\alpha$ -Mannosidase II nicht identisch mit ihr ist (**JOLLY und WALKLEY, 1997**).

**DORLING et al. (1980)** blockierten mit einer Konzentration von 20  $\mu$ M Swainsonin 100% der sauren  $\alpha$ -Mannosidase (pH 4,0) und 60% der neutralen  $\alpha$ -Mannosidase (pH 6,5), die aus Mäusehepatozyten isoliert worden waren. **TULSIANI et al. (1982)** blockierten jeweils 50% der aus Rattenhepatozyten gewonnenen Golgi  $\alpha$ -Mannosidase-II (pH 5,5) und lysosomalen  $\alpha$ -Mannosidase (pH 4,4) durch Inkubation mit 0,2  $\mu$ M Swainsonin. In einer anderen Studie beobachteten **TULSIANI et al. (1987)** eine 50%ige Blockade der aus Rattennierenzellen isolierten zytosolischen  $\alpha$ -Mannosidase (pH 6,0), die sie mit einer Konzentration von 100  $\mu$ M Swainsonin inkubierten.

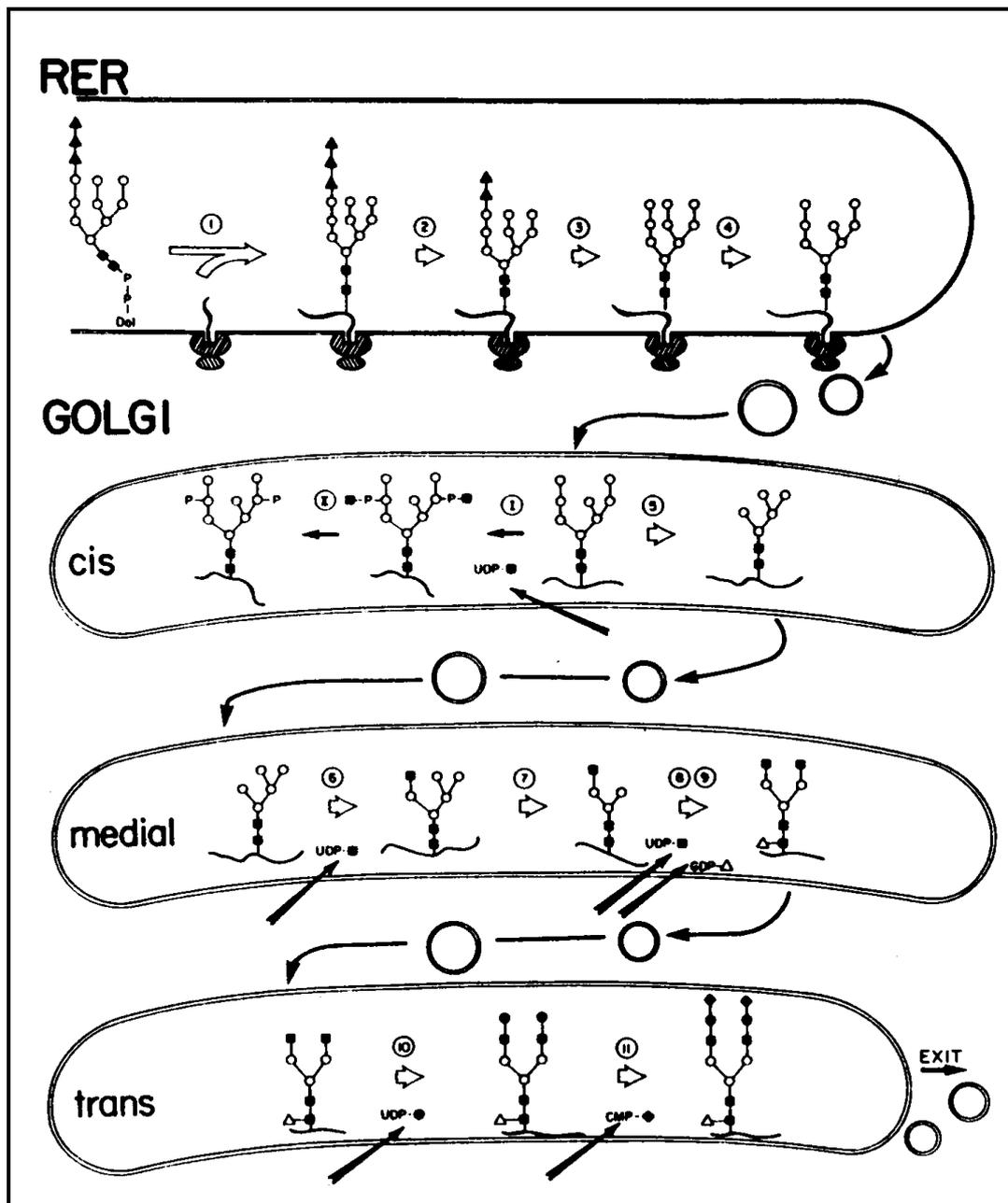
#### 2.4.1.1 Effekt von Swainsonin auf die Glykoproteinbildung

Glykoproteine werden normalerweise in der Zelle auf zwei unterschiedlichen Wegen synthetisiert:

1. Der Glykosyltransferase-Weg, über den O-glykosidisch gebundene Oligosaccharidketten synthetisiert werden.
2. Der Phosphodolichol-Weg (intermediäres Carrier-Lipid), über den Oligosaccharidketten synthetisiert werden, die für den Aufbau von Glykoproteinen mit N-glykosidische gebundenen Kohlenhydrat-Ketten verwendet werden und die mit Asparaginseitenketten verknüpft sind. Ein Schema dieses Syntheseweges ist in Abb. 2 dargestellt.

Die N-gebundenen Oligosaccharidseitenketten werden Ko-translational im rER auf die wachsende Polypeptidkette übertragen. Während des Transportes unterliegen sie im rER und vor allem im Golgi-Apparat vielfältigen Modifikationen. Einige Enzyme entfernen Zuckerreste und andere fügen solche

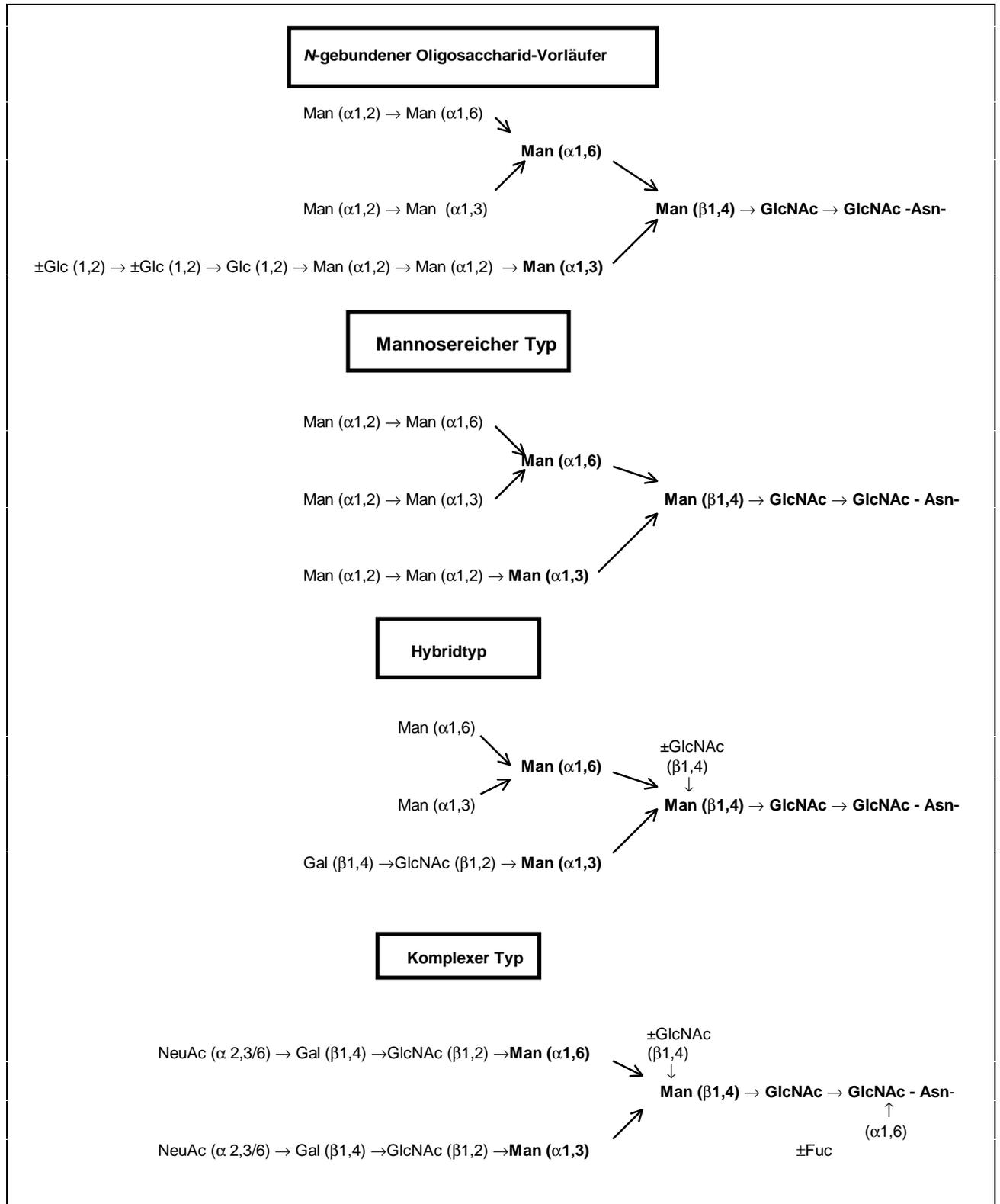
Abb. 2: Schema der Synthese von Glykoprotein *N*-Glykanen (aus KORNFELD und KORNFELD, 1985)



hinzu. Am Ende entstehen Glykoproteine der mannosereichen und komplexen Typen. Im rauhen endoplasmatischen Retikulum spalten Glukosidase-I und Glukosidase-II Glukosereste (Glc) vom Vorläufermolekül ( $\text{Glc}_3\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2\text{-Asn}$ ) ab, und es entsteht  $\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2$ , das durch die ER-Mannosidase in  $\text{Man}_8\text{GlcNAc}_2$  überführt wird. Im Golgi-Apparat findet eine weitere Umgestaltung des Moleküls in drei Schritten statt. Der erste Schritt erfolgt durch die  $\alpha$ -Mannosidase-I im *cis*-Kompartiment und es entsteht  $\text{Man}_5\text{GlcNAc}_2$ . Der zweite Schritt beginnt im mittleren Abschnitt der Zisterne. Zuerst wird ein *N*-Acetylglukosaminylrest durch die *N*-Acetylglukosaminyltransferase-I eingefügt ( $\text{GlcNAcMan}_5\text{GlcNAc}_2$ ), dann werden die  $\alpha$ -1,3 und  $\alpha$ -1,6 Mannosereste durch die  $\alpha$ -Mannosidase-II entfernt, und es entsteht  $\text{GlcNAcMan}_3\text{GlcNAc}_2$ . Zuletzt wird wieder ein *N*-Acetylglukosaminrest durch die *N*-Acetylglukosaminyltransferase-II eingefügt ( $\text{GlcNAc}_2\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$ ). Während dieses Schrittes können durch die Fucosyltransferase auch Fucosereste eingebaut werden. Der dritte Schritt erfolgt im *trans*-Kompartiment. Hier erfolgt durch die Enzyme Galaktosyltransferase und Sialyltransferase eine Verlängerung der Oligosaccharidketten durch Einfügen von Galaktose- (Gal) und Sialinsäureresten (NeuAc). Es entsteht ein Glykoprotein mit Oligosaccharidketten vom komplexen Typ (Abb. 3). (**GOLDBERG und KORNFELD, 1983; MOVIKOFF et al., 1983; KORNFELD und KORNFELD, 1985; MOREMEN und TOUSTER, 1985; ROTH et al., 1986; BRADA et al., 1990; NILSSON et al., 1993; THOMAS und BEAUDET, 1995**).

**Abb 2.** RER=rauhes endoplasmatisches Retikulum; *cis*-, mittlere- und *trans*-Golgi-Kompartimente; 1) Oligosaccharyltransferase; 2) Glukosidase-I; 3) Glukosidase-II; 4) rER- $\alpha$ -Mannosidase-I; I) *N*-Acetylglukosaminylphosphotransferase; II) *N*-Acetylglukosaminyl-1-Phosphodiester- $\alpha$ -*N*-Acetylglukosaminidase; 5)  $\alpha$ -Mannosidase-I des Golgi-Apparats; 6) *N*-Acetylglukosaminyltransferase-I; 7)  $\alpha$ -Mannosidase-II des Golgi-Apparats; 8) *N*-Acetylglukosaminyltransferase-II; 9) Fucosyltransferase; 10) Galaktosyltransferase; 11) Sialyltransferase. Verwendete Symbole: schwarze Vierecke = GlcNAc; Kreise = Man; schwarze Dreiecke = Glc; Dreiecke = Fuc; schwarze Kreise = Gal; schwarze Rhomben = NeuNAc; P = Phosphat

**Abb. 3: Allgemeine Strukturen der Oligosaccharidketten von mannosereichen, hybriden und komplexen Typen (aus KORNFELD und KORNFELD, 1985)**



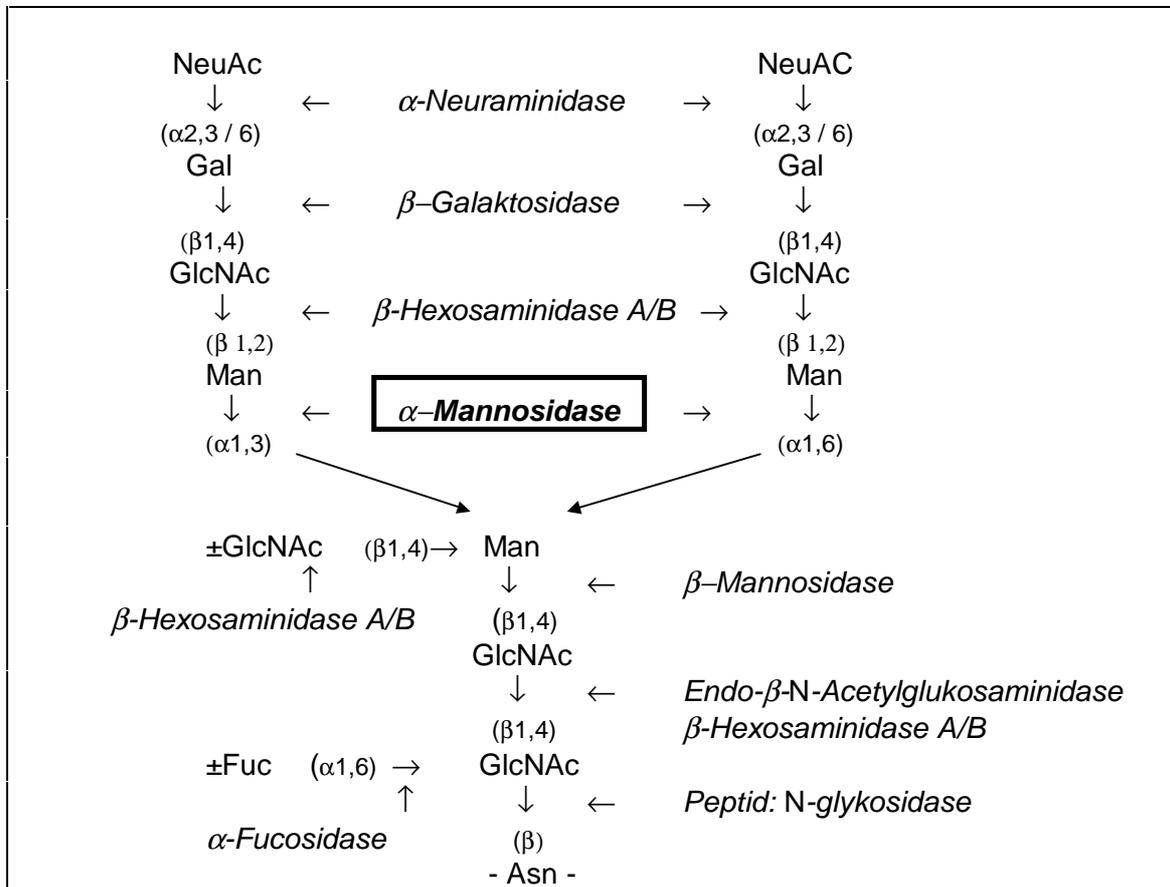
Durch *in vivo*- und *in vitro*-Studien wurde festgestellt, daß Swainsonin die Bildung von Glykanen vom Hybridtyp induziert. Durch Hemmung der Golgi  $\alpha$ -Mannosidase-II werden die  $\alpha$ -1,3 und  $\alpha$ -1,6 Mannosereste nicht abgespalten. Dadurch bleibt der Umbau des Glykoproteins auf der Stufe des GlcNAcMan<sub>5</sub>GlcNAc<sub>2</sub> stehen, und die Galaktosyl- und Sialyltransferase können nur an einem Zweig Galaktose- (Gal) und Sialinsäurereste einfügen, so daß Kohlenhydrat-Ketten vom Hybridtyp entstehen (**TULSIANI et al., 1982, 1983, 1984, 1985, 1987, 1988**).

#### **2.4.1.1.2 Effekt von Swainsonin auf den Glykoproteinabbau**

Entsprechend der Synthese von Glykoproteinen ist auch der Abbau ein komplexer Vorgang. Er ist abhängig von der Synthese und der korrekten intrazellulären Verteilung von Enzymen, der Natur der Substrate und dem intralysosomalen Milieu. In den meisten Zelltypen findet der Abbau von Glykoproteinen intralysosomal statt.

Der Abbau der Oligosaccharidkette des Glykoproteins findet immer unidirektional und geordnet statt. Er erfolgt an den terminalen nicht-reduzierenden Zuckerresten, wobei die einzelnen Reste nacheinander abgespalten werden. Die Abspaltung der terminalen nicht-reduzierenden Zuckerreste erfolgt durch die lysosomalen Exoglykosidasen  $\alpha$ -Neuraminidase,  $\beta$ -Galaktosidase,  $\beta$ -*N*-Acetylhexosaminidase,  $\beta$ -Mannosidase,  $\alpha$ -Mannosidase und  $\alpha$ -Fucosidase. Parallel werden durch Endoglykosidasen (z.B. Endo- $\beta$ -*N*-Acetylglucosaminidase) und Peptid: *N*-glykosidasen komplette Kohlenhydrat-Ketten freigesetzt und dann weiter abgebaut (Abb. 4). Das Fehlen eines dieser Enzyme kann eine lysosomale Speicherung von nicht abgebauten Produkten verursachen (**THOMAS und BEAUDET, 1995**).

**Abb. 4: Abbaumodell von Oligosaccharidketten des komplexen Typs (aus THOMAS und BEAUDET, 1995)**

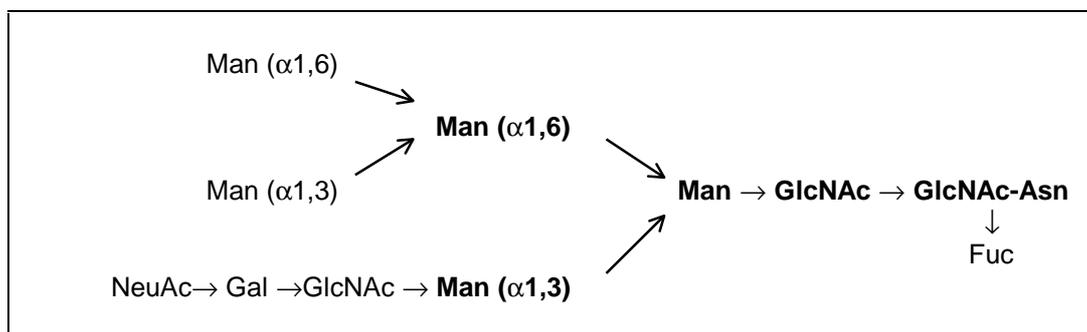


**HANCOCK (1989)** stellte an Zellkulturen aus humanen Fibroblasten fest, daß der Effekt von Swainsonin spezifisch auf eine partielle Blockade der Golgi  $\alpha$ -Mannosidase-II und/oder der lysosomalen  $\alpha$ -Mannosidase begrenzt ist. Diese Autoren fanden keinen Effekt auf andere lysosomale Hydrolasen und keine Veränderung des lysosomalen Milieus oder der Struktur der Lysosomen.

Eine Inhibition des Transports oder der Fusion von Vesikeln des lysosomalen Systems wurde von **TULSIANI und TOUSTER (1992)** in Hepatozyten von Ratten, die mit Swainsonin vergiftet wurden, festgestellt. Nach **TULSIANI et al. (1984, 1988)** verursacht Swainsonin eine intralysosomale Speicherung von mannosereichen Oligosacchariden in den Gehirnen von Schweinen, Rindern und Schafen. Etwa 25% der gespeicherten Glykoproteine zeigen eine Hybrid-

Struktur (Abb. 5). Desweiteren fanden diese Autoren erhöhte intralysosomale Gehalte an  $\alpha$ -Mannosidase,  $\alpha$ -Fucosidase, und  $\beta$ -N-Acetylglukosaminidase in Leber, Milz und Lymphknoten vom Schwein. Zusätzlich war in der Leber der Gehalt an lysosomaler  $\alpha$ -Glukosidase erhöht.

**Abb. 5: Glykan vom Hybridtyp. Hauptsächlich gespeicherte Struktur in Gehirnen von Tieren bei Vergiftungen mit Swainsonin und *Astragalus lentiginosus* (aus TULSIANI et al., 1988)**



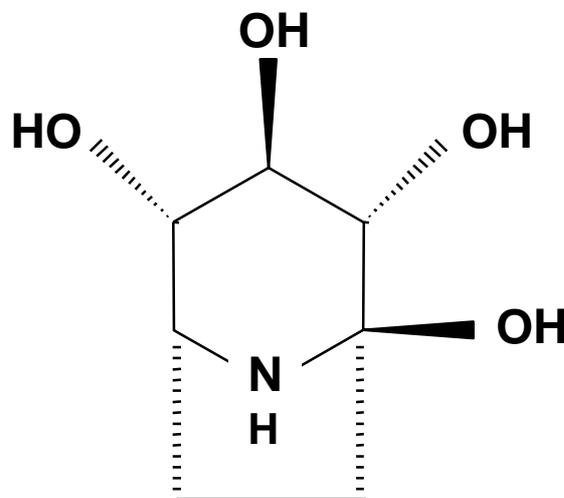
#### 2.4.2 Das Alkaloid Calystegin

Bei dem Alkaloid Calystegin handelt es sich um ein Trihydroxyl- und Tetrahydroxyl-Nortropan (Abb.6), das aus den Convolvulaceen *Calystegia sepitum* (TEPFER et al., 1988) und *Convolvulus arvensis* (MOLYNEUX et al., 1993) isoliert wurde. Calystegin B zeigt eine 50%ige inhibitorische Wirkung auf die  $\beta$ -Glukosidase bei einer Konzentration von 0,6  $\mu$ g/ml und auf die  $\alpha$ -Galaktosidase bei einer Konzentration von 1,2  $\mu$ g/ml bei einem pH-Wert 5,0 (MOLYNEUX et al., 1993). Im Gegensatz zum Swainsonin ist die Wirkung von Calystegin auf den lebenden Organismus noch weitgehend ungeklärt. Nach Meinung von MOLYNEUX et al. (1994) gibt es Hinweise, daß in den Pflanzen *Solanum dimidiatum*, *S. kwebense* und *S. fastigiatum* var. *fastigiatum* das Alkaloid Calystegin B<sub>2</sub> enthalten ist.

Die Aufnahme dieser Pflanzen verursacht bei Rindern klinisch neurologische Symptome. Histopathologisch findet man auf das Kleinhirn begrenzte Läsionen, die durch eine zytoplasmatische Vakuolisierung besonders der Purkinje-Zellen

charakterisiert sind (MENZIES et al., 1979; PIENAAR et al., 1976; RIET-CORREA et al., 1983). Ultrastrukturell liegt eine Ansammlung von Lamellarkörperchen vor, die denen ähneln, die bei der Gangliosidose gefunden werden (BARROS et al., 1987; RIET-CORREA et al., 1983).

Abb. 6: Molekülstruktur von Calystegin B<sub>2</sub> (aus MOLYNEUX et al., 1993)



## 2.5 Intoxikation mit den Pflanzen *Swainsona* spp., *Astragalus* spp. und *Oxytropis* spp.

Das Vorkommen von Vergiftungen durch Pflanzen der Genera *Swainsona*, *Astragalus* und *Oxytropis* werden in semiariden Regionen in Australien bzw. den USA beschrieben. Vergiftungen durch diese Pflanzen bei Rindern, Schafen und Pferden wurden sowohl in den USA als auch in Australien bereits im vorigen Jahrhundert beobachtet (HUXTABLE und DORLING, 1982; JAMES und PANTER, 1989). Alle diese Pflanzen enthalten das Alkaloid Swainsonin (COLEGATE et al., 1979; MOLYNEUX und JAMES, 1982).

Vergiftungen durch *Astragalus* spp. und *Oxytropis* spp. (Locoweed) sind ein bedeutendes Problem im Westen von Nordamerika, wo sie erhebliche

ökonomische Verluste verursachten. Dagegen haben Vergiftungen durch *Swainsona* spp. nur eine lokale Bedeutung in einigen Regionen von Australien. Um Vergiftungserscheinungen auszulösen, müssen die Pflanzen in großen Mengen über längere Zeiträume aufgenommen werden, wie es in Zeiten von Futterknappheit vorkommt. Danach entwickeln viele Tiere eine Gewohnheit diese Pflanze zu fressen, auch wenn genügend Futter zur Verfügung steht (**HUXTABLE und DORLING, 1982; RALPHS und MOLYNEUX, 1989**). Nach **STEGELMEIER et al. (1994, 1995)** verursacht eine Fütterung von *Oxytropis serica* und *Astragalus lentiginosus*, die einer Aufnahme von Swainsonin von ca. 1,0 mg/kg KM/Tag bei Schafen und ca. 0,8 mg/kg KM/Tag bei Rindern entspricht, nach 30 Tagen bei beiden Tierspezies neurologische Symptome.

Unterschiedliche Arten von *Swainsona*, *Astragalus* und *Oxytropis* zeigen große Schwankungen im Gehalt an Swainsonin. Die Schwankungen sind abhängig vom Pflanzenteil und dem jeweiligen Lebenszyklus. **DORLING et al. (1989)** stellten fest, daß *Swainsona galegifolia* einen Gehalt von ca. 362 ppm des Alkaloids Swainsonin in den Blättern und von ca. 967 ppm in den Samen aufweist. *S. canescens* beinhaltet ca. 182 ppm in den Grünanteilen und *S. greyana* ca. 3900 ppm im Samen. **MOLYNEUX et al. (1989)** wiesen in *Astragalus lentiginosus* einen Gehalt von 0,005% bis 0,037% Trockenmasse an Swainsonin in den Blättern und von ca. 0,36% in den Samen und in *Oxytropis serica* einen Gehalt von 0,007% bis 0,079% Trockenmasse in den Blättern und von 0,008% bis 0,103% Trockenmasse in den Samen nach.

Nach **RALPHS und MOLYNEUX (1989)** hängt die Inzidenz des Auftretens von Vergiftungen durch Locoweed von der Bereitschaft der Tiere ab, diese Leguminose aufzunehmen. Die einzelnen Spezies von Locoweed variieren stark in ihrer Schmackhaftigkeit für die Tiere. Die Bereitschaft zur Aufnahme von Locoweed hängt auch von der Schmackhaftigkeit des zur Verfügung stehenden Grasangebotes ab.

Das Alkaloid Swainsonin induziert keine physische oder psychische Abhängigkeit, wie von **MARSH (1909)**, **KINGSBURY (1964)** und **EVERIST (1981)** dargestellt. Die Tiere fressen Locoweed, weil kein anderes Futter zur

Verfügung steht und entwickeln danach eine Gewohnheit zur Aufnahme von Locoweed auch dann, wenn anderes Futter von guter Qualität zur Auswahl steht. Desweiteren scheint es, daß die stark erkrankten Tiere nicht mehr unterscheiden können, welches Futter sie aufnehmen.

Die Symptome treten nach einigen Wochen auf und sind charakterisiert durch eine progressive Schädigung der psychisch-motorischen Funktionen und Abmagerung. Sowohl die klinischen Symptome als auch die pathologisch-anatomischen Veränderungen ähneln denen, die bei der erblichen  $\alpha$ -Mannosidose auftreten (**HARTLEY et al., 1989; JAMES und PANTER, 1989; WALKLEY und SIEGEL, 1989**). In einer vergleichenden Studie über Locoweed und *Swainsona* spp. stellten **HARTLEY et al. (1989)** ähnliche Krankheitsbilder fest. Es ergaben sich aber auch einige Unterschiede. Bei der Vergiftung mit Locoweed sind drei Syndrome bekannt:

1. Ein neurologisches Krankheitsbild, das als Locoismus bekannt ist.
2. Ein reproduktives und teratogenes Syndrom.
3. Eine Verbindung zwischen dem Auftreten von Locoweed-Vergiftungen und der Höhenkrankheit.

Locoismus wird durch die Aufnahme von Pflanzen der Genera *Astragalus* und *Oxytropis* verursacht. Das Krankheitsbild ähnelt dem durch Vergiftung mit einigen Spezies von *Swainsona* in Australien. Die Symptome bei Rindern sind eine Verschlechterung des physischen Allgemeinbefindens, Tremor des Kopfes, Hyperexzitation und steifbeiniger Gang. Später halten die Tiere den Kopf gesenkt, Inkoordination, Kollaps und Tod folgen. Die Tiere erholen sich, wenn sie aus dem Vergiftungsgebiet entfernt werden. Bei Schafen treten Symptome einige Wochen nach Beginn der Pflanzenaufnahme auf. Sie zeigen psychische Störungen, Opisthotonus, Tremor des Kopfes, Blindheit, breitbeinigen Gang, Inkoordination und Dekubitus. Viele Schafe zeigen keine neurologischen Symptome, nur eine Verschlechterung des Allgemeinbefindens. Der einzige Sektionsbefund ist Abmagerung. Die histologischen Veränderungen sind charakterisiert durch eine diffuse neuroviszerale zytoplasmatische Vakuolisierung, die vor dem Auftreten von ersten Symptomen vorhanden ist und

auch noch einige Wochen nach Absetzen der Futteraufnahme beobachtet werden kann. Das Zentralnervensystem zeigt zusätzlich zu der Vakuolisierung eine axonale Sphäroidbildung, die mit dem ersten Auftreten der Symptome korreliert ist. In experimentellen Fällen bei Schafen wurde eine Meganeuritenbildung in Neuronen des Thalamus festgestellt (**HUXTABLE et al., 1982**).

Der Effekt von Locoweed auf die Reproduktion und die Verbindung mit der Höhenkrankheit wurde bei der Vergiftung mit *Swainsona* spp. nicht beobachtet (**HARTLEY et al., 1989**).

Bei dem durch Locoweed verursachten reproduktiven Syndrom kommt es zu Aborten, Frühgeburten und Geburten von lebensschwachen Tieren. Außerdem treten Mißbildungen auf. Eine zytoplasmatische Vakuolisierung findet man im ZNS, im Schilddrüsengewebe, in Tubulusepithelien der fetalen Niere sowie auch in der Plazenta (**JAMES et al., 1967; HARTLEY et al., 1989**).

Rinder, die in Gebieten von mehr als 3300m Höhe leben und mit *Oxytropis serica* gefüttert wurden, zeigten eine diffuse neuroviszerale Vakuolisierung und entwickelten Symptome und Veränderungen, die charakteristisch für die Höhenkrankheit waren (**JAMES et al., 1986**).

## 2.6 Lysosomale Speicherkrankheiten

Bei lysosomalen Speicherkrankheiten handelt es sich um eine Gruppe von Krankheiten, die durch eine Defizienz der Aktivität spezifischer Hydrolasen gekennzeichnet sind und zu einer intralysosomalen Speicherung unvollständig abgebauter Produkte führen (**NEUFELD, 1991; AGMOULIS, 1995; WALKLEY, 1998**). Der Begriff Speicherkrankheit wurde zum erstenmal von **HERS (1965)** bei der Beschreibung einer intralysosomalen Glykogenspeicherung verwendet, wie sie bei der Pompe-Krankheit auftritt, die durch eine erbliche Defizienz der  $\alpha$ -Glukosidase gekennzeichnet ist.

Bis heute wurden beim Menschen 30 erbliche lysosomale Speicherkrankheiten mit verschiedenen Subtypen beschrieben (**AGMOULIS, 1995; NEUFELD, 1991; SCRIVER et al., 1995**). Dazu kommen über 30 "cationic amphiphilic drugs" mit

einem großen pharmakologischen Wirkspektrum, die intralysosomale Speicherkrankheiten verursachen können (**REASON, 1989**).

Humane lysosomale Speicherkrankheiten werden im allgemeinen autosomal rezessiv vererbt (**JOLLY und WALKLEY, 1997**). Nach **KORNFELD (1986)** entstehen sie, wenn

1. das spezifische Enzym nicht synthetisiert wird;
2. das spezifische Enzym zwar synthetisiert wird aber biologisch inaktiv oder instabil in prälysosomalen oder lysosomalen Organellen vorliegt;
3. das spezifische Enzym zwar synthetisiert wird, aber das Protein, das für die Enzymaktivierung verantwortlich ist, fehlt oder ineffektiv ist;
4. das spezifische Enzym zwar synthetisiert aber nicht in die Lysosomen internalisiert wird;
5. die spezifische lysosomale Hydrolase durch Toxine oder Drogen inhibiert oder blockiert wird;
6. ein unvollständig abgebautes Substrat in die Lysosomen aufgenommen wird.

Die erblichen lysosomalen Speicherkrankheiten zeigen beim Menschen einen progressiven Verlauf mit letalem Ausgang. Die meisten treten multisystemisch auf. Man unterscheidet infantile, juvenile und adulte Verlaufsformen. Der zeitliche Verlauf, die auftretenden Symptome und der Schweregrad der Erkrankung können von der Ausprägung der Enzymdefizienz abhängen. Schwere Symptome mit einem raschem Krankheitsverlauf treten auf, wenn das Enzym aufgrund eines genetischen Defektes nicht synthetisiert wird. Wenn die Mutation eine partielle Synthese des spezifischen Enzyms oder eine Synthese des spezifischen Enzyms mit herabgesetzter Aktivität erlaubt, treten entweder nur leichte Symptome auf oder die Krankheit manifestiert sich erst zu einem späteren Zeitpunkt. Schon kleine Unterschiede in der Restaktivität des Enzyms führen zu Unterschieden hinsichtlich des Alters, in dem die Symptome auftreten, der Progredienz des Verlaufs oder des auftretenden Subtyps. Die kritische Toleranzschwelle und der Grad der Speicherung hängen von der Substratanflutung, dem Gewebetyp, den Subpopulationen an Zellen eines

Organes sowie vom Reifungsstadium der Zellen ab (**JOLLY und WALKLEY, 1997; NEUFELD, 1991**).

Von den erblichen lysosomalen Speicherkrankheiten sind alle Organsysteme betroffen, die schwerste klinische Manifestation zeigt sich jedoch am zentralen Nervensystem sowie am Skelett (**AGMOULIS, 1995**). Neurologische Symptome, die besonders bei neuronalen Lipidosen auftreten, sind psychomotorische Störungen, Epilepsie, Erblindung, periphere Neuropathie, progressive Störung des vegetativen Nervensystems und generalisierte Muskelatrophie. Deutliche extraneuronale Symptome treten z.B. bei Mucopolysaccharidosen, Glykogenosen, Gaucher-Krankheit und Niemann-Pick-Krankheit II auf. Mucopolysaccharidosen führen zu Wachstumsverzögerung, Dysostosis multiplex, Zunahme des Bindegewebes, respiratorische Störungen und Bronchopneumonie. Kardiomegalie, Hypotonie und Hypertonie der Muskulatur findet man bei der Glykogenose II, Malabsorptionssyndrom bei der Wolman-Krankheit, Hepatomegalie bei der Gaucher-Krankheit, Niemann-Pick-Krankheit II und  $G_{M1}$ -Gangliosidose, und nephrotisches Syndrom, Proteinurie und progressive Niereninsuffizienz bei der Fabry-Krankheit und anderen lysosomalen Speicherkrankheiten (**AGMOULIS, 1995; JOLLY und WALKLEY, 1997**).

Pathologisch-anatomisch äußern sich Mucopolysaccharidosen in einer Unterentwicklung des Skelettes sowie in einer Dysostosis multiplex. Eine zerebrale Atrophie findet man bei Globoidzell-Leukodystrophie und Zeroidlipofuszinose, Vergrößerung der peripheren Nerven bei Fucosidosen. Kardiomegalie wird beschrieben bei der Glukogenose II, Hepatomegalie besonders bei  $G_{M1}$ -Gangliosidose, Niemann-Pick - und Gaucher-Krankheit (**JOLLY und WALKLEY, 1997**).

Pathologisch-histologisch lassen sich erbliche lysosomale Speicherkrankheiten an Routineschnitten anhand eines schaumigen oder vakuolisierten Zytoplasmas in Zellen verschiedener Gewebe erkennen. Bei den  $G_{M1}$ - oder  $G_{M2}$ -Gangliosidosen sind Läsionen an Neuronen zu erkennen. Bei der Globoidzell-Leukodystrophie wird ein Abbauprodukt zugrunde gegangener

Oligodendrozyten in Makrophagen gespeichert oder im Extrazellularraum des Zentralnervensystems abgelagert. Die Veränderungen im Rahmen der Mucopolysaccharidosen manifestieren sich am Bindegewebe und am Skelett, im Rahmen der Gaucher-Krankheit an Makrophagen von Leber und Milz.

Durch Paraffineinbettung formalinfixierten Gewebes wird bei den meisten Speicherkrankheiten das gespeicherte Material herausgelöst. Histochemische und immunhistologische Methoden sind eine große Hilfe zum Nachweis der Natur der gespeicherten Substanzen. Lipide werden anhand von Spezialfärbungen wie Sudan III, Sudanschwarz, Ölrot und Luxol-Fast-Blue dargestellt und ermöglichen die Identifizierung von Sphingolipidosen. Glykogenosen werden durch die PAS-Färbung nachgewiesen. Zeroidlipofuszinosen lassen sich an ungefärbten Paraffinschnitten durch die Eigenfluoreszenz im UV-Licht darstellen. Lektin histochemische Methoden werden verwendet, um lysosomal gespeicherte Oligosaccharidseitenkettenreste bei verschiedenen Glykoproteinosen und Glykolipidosen nachzuweisen (**ALROY et al., 1984, 1985**). Nach **WALKEY (1995)** können Ganglioside anhand immunhistologischer Methoden identifiziert werden. Die Silberimprägnation ist eine wichtige Methode zur morphologischen Erkennung axonaler Anomalien. Meganeuriten und eine ektopische Dendritogenese, die bei verschiedenen Formen von Sphingolipidosen auftreten, lassen sich nur so sichtbar machen (**WALKEY, 1998**). Axonale Sphäroide können über den immunhistologischen Nachweis von Neurofilament dargestellt werden. Über den immunhistologischen Nachweis von GAD (Glutamic acid decarboxylase) können Sphäroide identifiziert werden, die von GABA-ergen Neuronen stammen (GABA =  $\gamma$ -aminobutyric acid).

Die Elektronenmikroskopie liefert wertvolle zusätzliche diagnostische Informationen. Sphingolipidosen, besonders die Gangliosidosen zeigen eine charakteristische intrazytoplasmatische Ansammlung von membranösen Körperchen. Lamellarkörperchen, sogenannte Zebra-Körperchen, treten besonders bei Mucopolysaccharidosen auf. Ansammlungen von Körperchen, in deren Matrix röhrenförmige Strukturen liegen, findet man bei

Glukozerebrosidosen und Galaktozerebrosidosen. Bei der Mannosidose, der Fucosidose und auch bei Mucopolysaccharidosen liegen optisch leere Vakuolen vor, die von einer einfachen Membran begrenzt sind. Bei der Glukogenose sind die Vakuolen angefüllt mit gespeichertem Glykogen. Die Zeroidlipofuszinose zeigt ein charakteristisches Auftreten von osmiophilen Körperchen mit kurvilinearem Profil. Die axonale Degeneration ist charakterisiert durch eine Ansammlung von Mitochondrien, vesikulo-tubulären Körperchen und Neurofilamenten.

## **2.6.1 Lysosomale Speicherkrankheiten bei Haustieren**

**JOLLY und WALKLEY (1997)** führten eine umfassende Literaturrecherche über das Vorkommen, die Verbreitung und Bedeutung von lysosomalen Speicherkrankheiten bei Haustieren durch. Dabei handelt es sich um Sphingolipidosen, Glykolipidosen, Oligosaccharidosen und Mucopolysaccharidosen. Daneben gibt es noch eine weitere Gruppe von lysosomalen Speicherkrankheiten, deren Pathogenese unbekannt ist. Dazu gehört die Zeroidlipofuszinose.

Lysosomale Speicherkrankheiten bei Haustieren sind selten. Es existieren nur einzelne Fallbeschreibungen oder Berichte über Tiermodelle, die zur Erforschung humaner Speicherkrankheiten dienen. Im Rahmen dieser Arbeit soll nur auf lysosomale Speicherkrankheiten bei Wiederkäuer eingegangen werden

### **2.6.1.1 Genetische lysosomale Speicherkrankheiten bei Wiederkäuern**

#### **2.6.1.1.1 Sphingolipidosen**

Die erblichen Speicherkrankheiten, bei denen der Abbau von Sphingolipiden gestört ist, stellen die größte Gruppe bei Mensch und Tier dar. Diese Krankheiten betreffen besonders das ZNS. In diese Gruppe eingeschlossen sind die klassischen lysosomalen neuronalen Speicherkrankheiten (**JOLLY und WALKLEY, 1997**).

Die  $G_{M1}$ -Gangliosidose (generalisierte Gangliosidose) wurde bei Rindern der Rasse Friesian (**DONNELLY et al., 1973a, b; SHEANHAN et al., 1974**), und bei Schafen der Rassen Coopworth-Romney (**SKELLY et al., 1995**) und Suffolk (**AHERN-RINDELL et al., 1988**) diagnostiziert. Die Speicherung von  $G_{M1}$ -Gangliosiden beruht auf einer Defizienz der  $\beta$ -Galaktosidase. Dieses Enzym spaltet die terminalen Galaktosereste und einige Oligosaccharide von  $G_{M1}$ -Gangliosiden. Bei Schafen der Rasse Suffolk wurde zusätzlich eine partielle Defizienz der  $\alpha$ -Neuraminidase festgestellt. Die Krankheit gleicht phänotypisch aber der  $G_{M1}$ -Gangliosidose.

Die Galaktozerebroside (Globoidzell-Leukodystrophie) wurde nur bei Schafen der Rasse Dorset (**PRITCHARD et al., 1980**) und zusätzlich bei Rindern der Rasse Nelore (**PEIXOTO und ARMIÉN, 1993, unveröffentlicht**) beobachtet. Die Galaktozerebroside wird durch eine Defizienz der lysosomalen Galaktosylceramidase-I (Galaktozerebroside  $\beta$ -Galaktosidase) verursacht. Dieses Enzym baut Galaktozerebroside zu Ceramiden und Galaktose ab. Das Krankheitsbild ist charakterisiert durch einen primär demyelinisierenden Prozeß und durch eine Speicherung nicht abgebauten Substrates in mononukleären Zellen, die besonders perivaskulär zu finden sind. Durch einen erhöhten Gehalt an dem auf Oligodendrozyten toxisch wirkenden Metaboliten Psychosine (Galaktosylsphingosin) kommt es zur Zerstörung von Oligodendrozyten. Die Demyelinisierung resultiert in einer zerebralen Atrophie (**SUZUKI et al., 1995**). Ein ähnliches Krankheitsbild wurde als Glukozerebroside (Gaucher-Krankheit) von **LAWS und SAAL (1968)** bei Schafen beschrieben. Hierbei kommt es aufgrund einer Defizienz der lysosomalen  $\beta$ -Glukosidase zu einer Speicherung von Glukosylceramiden in Makrophagen (Gaucher-Zellen) von Leber und Milz. Die Glukosylceramide stammen von Gangliosiden aus dem ZNS sowie von Globosiden aus Membranen von Erythrozyten und Leukozyten.

#### 2.6.1.1.2 Glykoproteinosen

Die Glykoproteinosen stellen die bedeutendste Gruppe an lysosomalen Speicherkrankheiten bei Wiederkäuern dar. Die  $\alpha$ -Mannosidose, die bei

Menschen sehr selten auftritt, kommt bei Haustieren häufig vor und stellt regional eine ökonomisch bedeutsame Erkrankung dar (**JOLLY und WALKLEY, 1997**).

Die erbliche  $\alpha$ -Mannosidose wurde besonders bei Rindern der Rasse Angus und in Kreuzungen (Murray Grey) beschrieben (**JOLLY, 1971, 1978, 1993**). **BORLAND et al. (1981)** berichteten auch von Erkrankungen bei Galloway Rindern.

Die Krankheit beruht auf einer lysosomalen Defizienz der  $\alpha$ -Mannosidase, die verantwortlich ist für den Abbau von *N*-glykosidisch gebundenen Oligosaccharidketten.

Bei dem lysosomal gespeicherten Material handelt es sich um mannosereiche Oligosaccharide sowie um Oligosaccharide vom hybriden und komplexen Typ (**DANIEL et al., 1989**). Die  $\alpha$ -Mannosidose ist eine systemische Erkrankung, die gekennzeichnet ist durch Wachstumsverzögerung, Ataxie und Aggressivität. Symptome und nachfolgender Tod treten im ersten Lebensjahr auf. Bei der Sektion der im Wachstum zurückgebliebenen Tiere finden sich eine Lymphadenopathie und eine Dilatation der Seitenventrikel des Gehirns. Daneben treten Brachygnathie und Hepatomegalie auf. Histologisch liegt eine neuronale und extraneuronale zytoplasmatische Vakuolisierung vor.

Die  $\beta$ -Mannosidose wurde von **HARTLEY et al. (1973)** bei Ziegen und von **JOLLY et al. (1990)** und **BRYAN et al. (1993)** bei Rindern der Rasse Salers beschrieben (vgl. 2.6.1.3.).

#### 2.6.1.1.3 Glykogen-Typ II Speicherkrankheit

Die Glykogen-Typ II Speicherkrankheit (Pompe-Krankheit) ist gekennzeichnet durch eine intralysosomale Speicherung von Glykogen, die auf einer Defizienz der  $\alpha$ -Glukosidase beruht. Das Krankheitsbild ist bei Rindern der Rasse Shorthorn (**RICHARDS et al., 1977; DORLING et al., 1981**), Brahman (**O'SULLIVAN et al., 1981**) und bei Schafen der Rasse Corriedale (**MANKTELOW und HARTLEY, 1975**) beschrieben worden. **PALMER et al.**

(1994) stellten bei Shorthorn Rindern eine fehlende Aktivierung der  $\alpha$ -Glukosidase aus dem Vorläufermolekül fest. Dagegen fehlt bei Brahman Rindern die m-RNA, die für das Vorläufermolekül der  $\alpha$ -Glukosidase kodiert, so daß die Bildung des Enzyms unterbleibt.

#### **2.6.1.1.4 Zeroidlipofuszinose**

Die Zeroidlipofuszinose kommt bei Rindern, Schafen und Ziegen vor. Es handelt sich um eine Gruppe von Speicherkrankheiten, deren Pathogenese bis heute nicht geklärt ist. Die Zeroidlipofuszinose wird den neuronalen Speicherkrankheiten zugerechnet. Sie ist durch eine neuronale Speicherung von Lipopigmenten charakterisiert. Diese können aber auch in anderen Geweben beobachtet werden. Als das am häufigsten gespeicherte Material wurde bei einigen Krankheitsformen die C-Untereinheit der ATP-Synthetase nachgewiesen. Bei dieser Untereinheit handelt es sich um ein hydrophobes Protein (**JOLLY und WALKLEY, 1997**). Eine andere Gruppe von Zeroidlipofuszinosen ist ultrastrukturell durch eine Ansammlung von osmiophilen Körperchen gekennzeichnet. Das gespeicherte Material besteht hierbei ebenfalls aus Proteinen und zwar hauptsächlich aus den beiden Sphingolipid-aktivierenden Proteinen A und B. Möglicherweise liegt eine Defizienz der Palmitoyl-Proteinthioesterase (**VESA et al., 1995**) und einiger lysosomaler Enzyme zugrunde (**VERKRUYSE und HOFMANN, 1996**). Genau wie bei den Formen, bei denen die Untereinheit C gespeichert wird, sind auch die Proteine A und B nicht Substrate der defizienten Enzyme (**JOLLY und WALKLEY, 1997**).

#### **2.6.1.2 Erworbene lysosomale Speicherkrankheiten bei Wiederkäuern**

Vergiftungen durch Pflanzentoxine verursachen in vielen Ländern erhebliche ökonomische Schäden in der Nutztierhaltung. In letzter Zeit wurden viele der Toxine als Verursacher von intralysosomalen Speicherkrankheiten identifiziert (**MOLYNEUX et al., 1993, 1994**). Bei den am häufigsten bei Rindern, Schafen, Pferden und anderen Tierspezies vorkommenden Intoxikationen handelt es sich

in den USA, Südafrika und China um Vergiftungen mit *Astragalus* spp. und *Oxytropis* spp. und in Australien mit *Swainsona* spp. Alle diese Leguminosen enthalten das Alkaloid Swainsonin (**COLEGATE et al., 1979; MOLYNEUX et al., 1994**). In Australien wurde das Indolizidinrihydroxyl-Alkaloid Catanospermin aus dem Samen von *Catanospermum australe* isoliert, der für Menschen und Rinder toxisch ist. Catanospermin ist ein Inhibitor der intralysosomalen  $\alpha$ - und  $\beta$ -Glukosidase. Das für Speicherkrankheiten typische klinische Krankheitsbild sowie die typischen histopathologischen Veränderungen konnten durch Catanospermin experimentell nicht ausgelöst werden. Möglicherweise kommt es *in vivo* nur zu einer partiellen Blockade des Enzyms, so daß sich das morphologische Bild der Glykogenose II nicht entwickelt (**REICHMANN et al., 1988, 1989**). Die zu einer anderen Gruppe von Alkaloiden gehörende Nortropan Calystegin B<sub>2</sub> und C<sub>1</sub> sind starke Inhibitoren der  $\beta$ -Glukosidase und  $\alpha$ -Galaktosidase und wurden aus verschiedenen Pflanzen der Familie der Convolvulaceae isoliert (**DE BALOGH et al., 1998, 1999; MOLYNEUX et al., 1995**). Dabei ist als einziger Vertreter dieser Familie *Ipomoea carnea*, das neben Calystegin auch das Alkaloid Swainsonin enthält, als Verursacher einer spontan vorkommenden Vergiftung bei Ziegen bekannt, deren morphologisches Bild dem der erblichen  $\alpha$ -Mannosidose entspricht (vgl. 2.4).

### 2.6.1.3 Lysosomale Speicherkrankheiten bei Ziegen

Bei Ziegen sind sowohl erbliche als auch lysosomale Speicherkrankheiten selten (**JOLLY und WALKLEY, 1997**). An erblichen lysosomalen Speicherkrankheiten sind nur die  $\beta$ -Mannosidose und Mucopolysaccharidose III D bekannt.

Die  $\beta$ -Mannosidose wurde bei Ziegen der Rasse Anglo-Nubiano beschrieben (**HARTHEY et al., 1973; HEALY et al., 1987; JONES und DAWSON, 1981; MATZURA et al., 1983**). Es handelt sich um eine autosomal-rezessiv erbliche Erkrankung, die durch eine Defizienz der lysosomalen  $\beta$ -Mannosidase gekennzeichnet ist. Dadurch wird eine intralysosomale Speicherung von Di- und

Trisacchariden mit einem terminalen  $\beta$ -Mannosarest verursacht. Die Erkrankung betrifft vor allem Neugeborene, die ausgeprägte neurologische Symptome und Skelettanomalien entwickeln. Das histopathologische Bild ist charakterisiert durch eine neuronale und extraneuronale zytoplasmatische Vakuolisierung. Außerdem besteht eine hochgradige Dysmyelinisierung.

Die Mucopolysaccharidose III D entwickelt sich aufgrund einer Defizienz der *N*-Acetylglukosamin-6-sulfatase. Bei dem gespeicherten Substrat handelt es sich um Heparansulfat (**THOMSON et al., 1992**).

Über induzierte lysosomale Speicherkrankheiten findet man in der Literatur nur kurze Beschreibungen. Vergiftungen mit *Astragalus lusitanicus* und *Oxytropis glabra* wurden beschrieben. In Brasilien berichteten **DRIEMEIER et al. (1998)** von Vergiftungen an Ziegen, die durch *Sida* sp. hervorgerufen wurden und deren klinisches und pathologisches Bild den Vergiftungen durch Swainsonin ähnelte. In Australien induziert *Solanum cinerum* eine lysosomale Speicherkrankheit mit neurologischer Symptomatologie, verursacht durch eine hochgradige Vakuolisierung in der Kleinhirnrinde (**BOURKE, 1997**). Der toxikologische Wirkungsmechanismus von *Solanum cinerum* und *Sida* sp. ist bis heute noch nicht bekannt.

---

### 3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN

#### 3.1 Material und Methoden

##### 3.1.1 Spontane Erkrankung

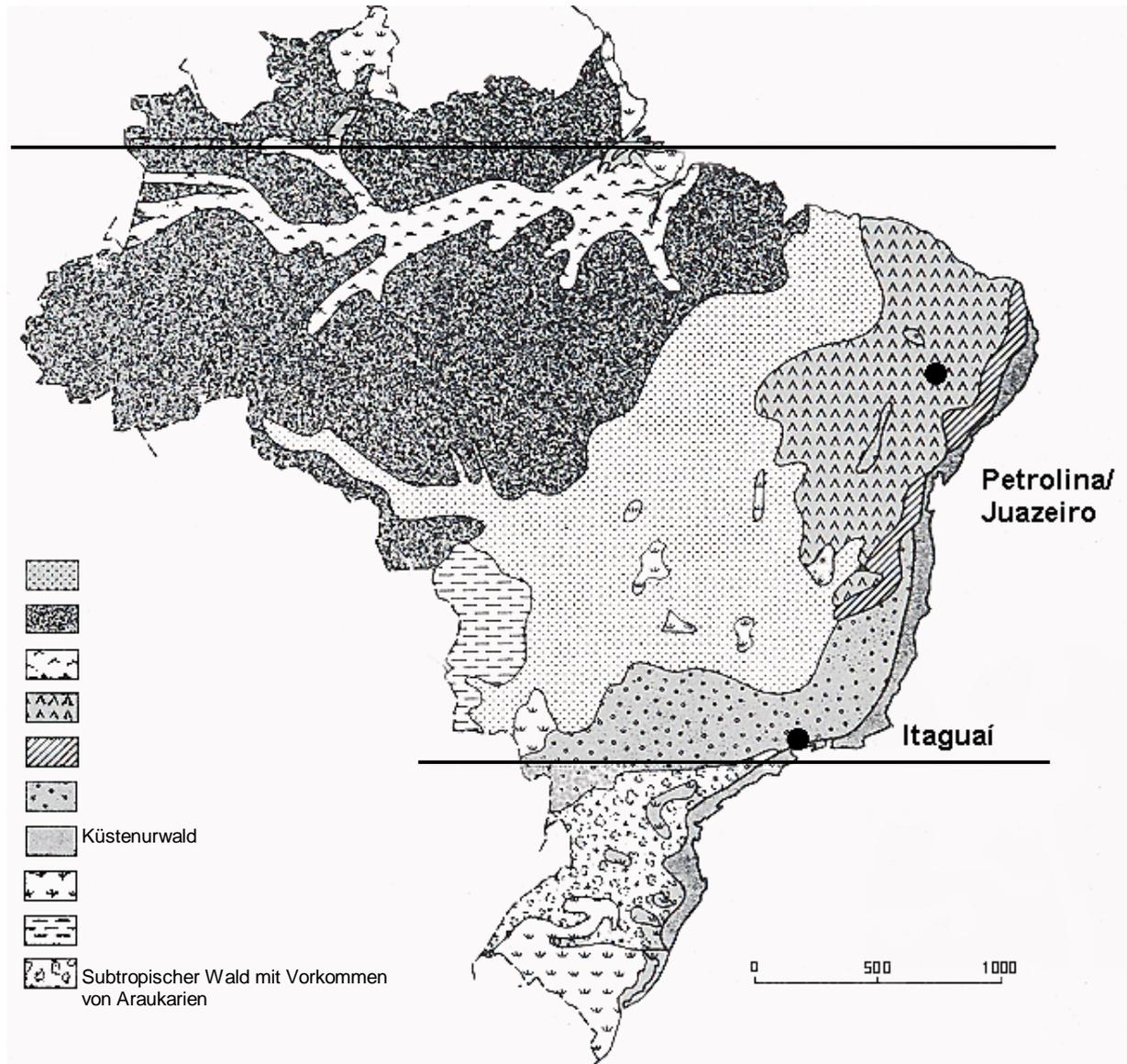
##### 3.1.1.1 Erhebung der Bestandsprobleme in der Gemeinde von Itaguaí-Rio de Janeiro, Petrolina-Pernambuco und Juazeiro-Bahia

Die Datenerhebung zu der spontanen Erkrankung wurde im Oktober 1993 in der Gemeinde von Petrolina, die zu der Provinz Pernambuco (PE) gehört, und der Gemeinde von Juazeiro, zu der Provinz Bahia<sup>1</sup> (BA) gehörend, durchgeführt. Die Daten wurden in verschiedenen Zuchtbetrieben erhoben. Dreiundzwanzig Ziegen, die laut Besitzer eine typische Symptomatologie für eine *Ipomoea fistulosa*-Vergiftung zeigten, wurden beobachtet. Davon wurden acht Tiere klinisch untersucht und zwei Tiere seziiert. Weiterhin wurde eine spontane Vergiftung mit *Ipomoea fistulosa* in der Gemeinde Itaguaí, in der Provinz Rio de Janeiro<sup>2</sup>, beschrieben. Die Daten über die Registrierungsnummer, Geschlecht, Gewicht, Alter und Herkunft der Tiere sind in Tabelle 1 aufgeführt.

---

<sup>1</sup> Die Gemeinden von Petrolina-PE und Juazeiro-BA liegen im Tal des Flusses São Francisco in der Nordostregion von Brasilien, 9°40' Süd, 40°50' West. Der Nordosten hat ein trockenes und heißes Klima. Im allgemeinen erreichen die Niederschläge 750-1000 mm pro Jahr. Die Regenzeit umfaßt in der Regel nur zwei bis maximal drei Monate. Die Jahrestemperatur liegt fast überall einheitlich zwischen 26° und 27° C; in der Trockenzeit etwas darüber, in der Regenzeit 1° bis 5° C darunter. Die Temperaturhöchstwerte werden in gewissen abgeschlossenen Gebieten im Landsinneren erreicht, z.B. im Tal des Rio São Francisco mit über 40° C im Sommer. Die Vegetation ist die "Caatinga". Sie besteht aus Dornstrauchvegetation, einerseits als echtes Dickicht aus kleinen Bäumen und Büschen, andererseits locker und fast Halbwüste (Abb. 7).

Abb. 7: Vegetationskarte von Brasilien



<sup>2</sup> Die Gemeinde Itaguaí-RJ liegt in der Südostregion von Brasilien, 22°30' Süd, 42°30' West. Der Südosten hat ein feuchtheißes Klima. Die Niederschläge in dieser Zone variieren sehr stark; sie liegen im Mittel zwischen 1000 und 1750 mm pro Jahr. Die Unterschiede zwischen den niederschlagsärmsten und niederschlagsreichsten Monaten liegen über 250 mm. Man registriert 3 bis 4 trockene Monate. Die mittleren Jahrestemperaturen variieren zwischen 22° und 24° C. Der kälteste Monat ist der Juli mit durchschnittlichen Minimaltemperaturen um 16° bis 18°C. Die Vegetation besteht aus feuchtem Regenwald (Abb. 7), dem „Küstenurwald“ (MÜLLER, 1984).

**Tabelle 1: Spontanvergiftung mit *Ipomoea fistulosa* bei Ziegen**

Reg. N <sup>o1</sup>	Geschlecht	Gewicht (kg)	Alter	Herkunft
5113	weiblich	21	adult	Petrolina-PE <sup>2</sup>
5019	weiblich	25	adult	Petrolina-PE
5114	weiblich	30	adult	Juazeiro-BA
5115	weiblich	16	adult	Juazeiro-BA
5116	weiblich	10	adult	Juazeiro-BA
5117	weiblich	25	adult	Juazeiro-BA
5118	weiblich	unbekannt	adult	Juazeiro-BA
5023	männlich	15	6 Monate	Itaguaí-RJ

<sup>1</sup> Registrierungsnummer des Fachgebietes Pathologische Anatomie des Forschungsprojektes „Tiergesundheit“ EMBRAPA/UFRRJ

<sup>2</sup> „Gemeinde-Provinz“ von Brasilien: PE = Pernambuco, BA = Bahia, RJ = Rio de Janeiro

### 3.1.1.2 Identifizierung der Pflanze

Die Pflanzen wurden in den Gemeinden von Petrolina, Juazeiro und Itaguaí gesammelt, in Papier gepreßt und bei Raumtemperatur getrocknet. Anschließend wurden sie zur botanischen Bestimmung an das Departamento de Botânica, Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro eingesandt.

### 3.1.2 Experimentelle Untersuchungen

#### 3.1.2.1 Versuchstiere

Für die folgenden Untersuchungen wurden 14 adulte Ziegen eingesetzt, wovon 10 Tiere weiblich und vier Tiere männlich waren. Es handelte sich um Tiere unbestimmter Rasse, die klinisch gesund waren. Die Tiere stammten aus dem Forschungsprojekt „Tiergesundheit“ EMBRAPA/UFRRJ, Gemeinde von Itaguaí, Rio de Janeiro, wo sie auf der Weide gehalten wurden. Die Ziegen wurden in Boxen gehalten. Einmal im Monat wurden die Tiere entwurmt und die Klauen beschnitten.

### 3.1.2.2 Versuchsdurchführung

Der oberirdische Teil von *Ipomoea fistulosa* und das Gras *Pennisetum purpureum* wurden täglich in den Monaten von Februar bis Juli in der Gemeinde von Itaguaí, Rio de Janeiro, entnommen. Parallel wurden Proben für die Bestimmung der Trockenmasse und des Nährwertes der Pflanzen untersucht, welche die Grundlagen für die Berechnung der Dosis bildeten. Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind in der Tabelle 2 aufgeführt (**ARMIÓN und MALAFAIA, 1993, unveröffentlicht**).

Jede Ziege erhielt täglich 6 kg Futtersubstanz, die auf sechs Rationen verteilt wurde, und Wasser *ad libitum*. Nach der Futterzusammensetzung wurden die Tiere in die folgenden vier Gruppen eingeteilt (Tab. 3):

- **Gruppe 1**, die aus drei Ziegen bestand (5079, 5069, 5070), wurde ausschließlich mit Blättern und Stengeln von *Ipomoea fistulosa* gefüttert.
- **Gruppe 2**, die aus sechs Ziegen bestand (5082, 5081, 5080, 5075, 5072, 5071), wurde mit einem Gemisch aus 50% zerkleinerten Blättern und Stengeln von *Ipomoea fistulosa* und 50% zerkleinerten Blättern von *Pennisetum purpureum* gefüttert.
- **Gruppe 3**, die aus drei Ziegen bestand (5074, 5076, 5073), wurde mit einem Gemisch aus 25% zerkleinerten Blättern und Stengeln von *Ipomoea fistulosa* und 75 % zerkleinerten Blättern von *P. purpureum* gefüttert.
- **Gruppe 4**, die aus den zwei Ziegen 5067 und 5124 bestand, stellte die Negativkontrolle dar. Die Ziege 5067 wurde mit zerkleinerten Blättern von *P. purpureum* in der Box gefüttert. Die Ziege 5124 wurde auf der Weide gehalten.

#### 3.1.2.2.1 Auswertung

Für die Berechnung der täglichen Futteraufnahme von *Ipomoea fistulosa* wurde die Menge des am nächsten Morgen übriggebliebenen Futters bestimmt und von der gegebenen Masse (6 kg) subtrahiert.

**Tabelle 2: Trockenmasse und Nährwerte von *Ipomoea fistulosa* und *Pennisetum purpureum***

Zusammensetzung	<i>Ipomoea fistulosa</i> (%)	<i>Pennisetum purpureum</i> (%)
Trockenmasse	15,51	30,97
Rohprotein	4,37	1,47
Mineralstoffe	1,60	2,00
Säure-Detergentien-Fasern	3,39	15,66
Calcium	0,31	0,08
Phosphor	0,07	0,04

### 3.1.2.3 Klinische Untersuchung und Versuchsablauf

Die klinische Untersuchung wurde wöchentlich durchgeführt. Nach Feststellung der ersten Symptome wurden die Tiere täglich beobachtet. Es wurden das äußere Erscheinungsbild, die Beschaffenheit von Kot und Urin, Atem- und Herzfrequenz, Pansenbewegung und Körpertemperatur bestimmt. Das Körpergewicht wurde wöchentlich registriert. Besonderes Augenmerk wurde auf die klinisch-neurologischen Symptome gelegt. Diese sind: Verhalten, Bewußtsein, Bewegungsablauf, Kopfnervenfunktion, spinale Reflexe, Haltungs- und Stellreaktionen und Schmerzempfindung (**DE LAHUNTA, 1983; VANDEVELDE und FANKHAUSER, 1987**). Neben der Prüfung der üblichen Haltungs- und Stellreaktion wurde eine „Aufsteh-Prüfung“ durchgeführt. Hierbei wurden die Tiere ca. 2 Minuten in Seitenlage fixiert und dann losgelassen, wobei gesunde Tiere sofort in abdominal-sternale Stellung zurückkehren und anschließend aufstehen.

Die Ziege 5073 ist ohne Fremdeinwirkung gestorben; die Ziegen 5069, 5070, 5071, 5072, 5075 wurden in moribundem Zustand durch Entbluten getötet; die Ziegen 5074, 5076, 5079 wurden nach unterschiedlicher Versuchsdauer durch Entbluten getötet. Die ersten drei Ziegen der Gruppe 2 (5080, 5081, 5082) dienten als Basis für die Korrelation zwischen den histologischen Veränderungen und dem Auftreten

der ersten klinischen Symptome. In der Tabelle 3 sind die Tötungszeitpunkte aufgelistet.

**Tabelle 3: Experimentelle Vergiftung mit *Ipomoea fistulosa* bei Ziegen**

<sup>1</sup> Reg. Nº	Geschlecht	Gewicht (kg)	Futtermaufnahme Anteil von <i>I. fistulosa</i>	Versuchsdauer (Tage)
Gruppe 1				
5079	weiblich	23,0	100%	61
5069	weiblich	25,5	100%	70
5070	männlich	24,5	100%	105
Gruppe 2				
5080	weiblich	19,0	50%	21
5081	weiblich	28,0	50%	30
5082	weiblich	23,0	50%	40
5075	weiblich	37,5	50%	53
5072	männlich	37,5	50%	77
5071	weiblich	22,5	50%	88
Gruppe 3				
5076	männlich	15,0	25%	53
5074	weiblich	28,5	25%	64
5073	männlich	16,5	25%	83
Gruppe 4				
5024	weiblich	27,0	00	90
5067	weiblich	34,5	00	118

<sup>1</sup> Registrierungsnummer des Fachgebietes Pathologische Anatomie des Forschungsprojektes "Tiergesundheit", EMBRAPA/UFRRJ

### 3.1.2.4 Präparation der Organe für die histopathologischen, immun-histochemischen und histochemischen Untersuchungen

#### 3.1.2.4.1 Entnahme der Organe

Die Sektion wurde sofort nach der Tötung der Tiere durchgeführt. Für die histologischen, lektinhistochemischen und immunhistochemischen Untersuchungen wurden Gehirn und Rückenmark als erstes entnommen und in 20%igem PBS-Formalin bei 4°C fixiert. Weiterhin wurden Proben folgender Organe in 10%igem

PBS-Formalin bei Raumtemperatur fixiert: Zunge, Speiseröhre, Pansen, Netzmagen, Blättermagen, Labmagen, Zwölffingerdarm, Leerdarm, Hüftdarm, Blinddarm, Dickdarm, Enddarm, Ohrspeicheldrüse, Leber, Bauchspeicheldrüse, Schilddrüse, Hirnanhangsdrüse, Nebennieren, Nasenmuschel, Luftröhre, Lunge, Herz, Lymphknoten (Ln. mandibularis, Ln. cervicalis superficialis, Ln. mediastinalis, Ln. popliteus, Ln. mesenterialis), Milz, Niere, Harnblase, Vorsteherdrüse, Hoden, Eierstock, Gebärmutter, Milchdrüse, Haut, Rippenknochen, Zwerchfellmuskulatur, Intercostalmuskulatur, M. biceps brachii, M. semitendinosus, Trigeminalganglion, Ganglion stellatum, Ganglion coeliacum, Nervus vagus, Plexus brachialis und Nervus ischiadicus.

#### **3.1.2.4.1.1 Untersuchung des Zentralnervensystems**

Für die histologische Untersuchung des Gehirns wurden 16 Schnittebenen von jeder Hemisphäre angefertigt (Abb. 8). Zur Orientierung dienten der "Atlas of brains of domestic animals" (**YOSHIKAWA, 1968**) und verschiedene Publikationen bzw. Dissertationen (**GOLLER, 1957; FOX und SNIDER, 1967; LEMMER, 1977; STEINBACH, 1978; HUMMEL, 1985; STÖRMER, 1985; VON SOLODKOFF, 1986; GEIGER, 1989; HASSELMANN, 1990**). Das Rückenmark wurde in segmentalen Stufen aufgearbeitet. Die verwendete Nomenklatur bezieht sich auf die „**NOMINA ANATOMICA VETERINARIA**“ (**1994**).

Folgende Gehirngebiete wurden in die Untersuchungen, sofern anhand des Gewebesschnittes eindeutig ansprechbar, einbezogen:

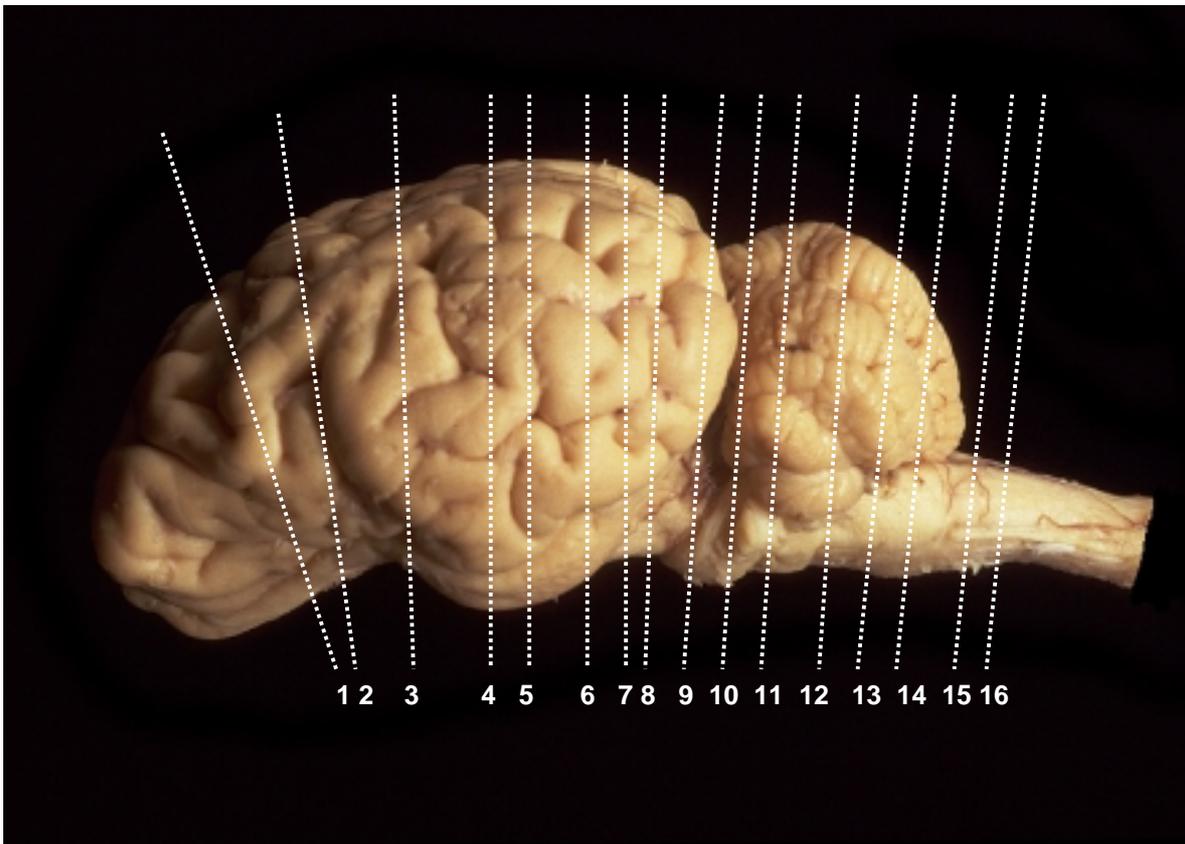
**Schnittebene 1:** Cortex frontalis; Cortex motorius.

**Schnittebene 2:** Cortex frontalis; Cortex parietalis; Nuc. caudatus; Nuc. lentiformis-Putamen; Nuc. accumbens.

**Schnittebene 3:** Cortex parietalis; Cortex temporalis; Nuc. caudatus; Nuc. lentiformis-Putamen; Nuc. lentiformis-Pallidum; Claustrum.

**Schnittebene 4:** Cortex parietalis; Cortex temporalis; Nucc. hypothalami; Nucc. rostrales thalami; Nucc. mediales thalami; Nucc. laterales thalami; Corpus amygdaloideum; Nuc. endopeduncularis.

Abb. 8: Ausgewählte Schnittebenen des Gehirnes



### 1-16, ausgewählte Schnittebenen

**Schnittebene 5:** Cortex cerebri; Gyrus parahippocampalis; Hippocampus; Nucc. mediales thalami; Nucc. laterales dorsales thalami; Nucc. laterales ventrales thalami; Pulvinar; Zona incerta; Nucc. subthalamici; Corpus mamillare.

**Schnittebene 6:** Cortex cerebri; Gyrus parahippocampalis; Hippocampus; Substantia grisea centralis; Pulvinar; Nuc. geniculatus lateralis; Nuc. ruber; Substantia nigra.

**Schnittebene 7:** Cortex occipitalis; Gyrus parahippocampalis; Hippocampus; Substantia grisea centralis; Pulvinar; Nuc. geniculatus lateralis; Nuc. geniculatus medialis; Nuc. ruber; Substantia nigra.

**Schnittebene 8:** Cortex occipitalis; Colliculus rostralis; Substantia grisea centralis; Nuc. tractus mesencephalici nervi trigemini; Nuc.

motorius nervi oculomotorii; Nuc. parasympathici nervi oculomotorii; Nuc. tegmenti; Nuc. mesencephalicus profundus; Nuc. ruber; Substantia nigra; Formatio reticularis.

**Schnittebene 9:** Cortex occipitalis; Colliculus caudalis; Substantia grisea centralis; Nuc. lemnici lateralis; Nuc. interpeduncularis; Nuc. marginalis pedunculi cerebellaris rostralis; Formatio reticularis.

**Schnittebene 10:** Culmen; Lobulus centralis; Substantia grisea centralis; Nuc. coeruleus; Nuc. motorius nervi trigemini; Nuc. sensibilis pontinus nervi trigemini; Nuc. lemnisci lateralis; Nucc. pontis; Formatio reticularis.

**Schnittebene 11:** Lingula cerebelli; Declive; Folium vermis; Lobulus ansiformis; Paraflocculus; Flocculus; Nuc. fastigii; Nucc. interpositi cerebelli; Nuc. vestibularis lateralis; Nuc. vestibularis medialis; Nuc. cochlearis; Nuc. tractus spinalis nervi trigemini; Nuc. motorius nervi abducentis; Nuc. dorsalis corporis trapezoidei; Formatio reticularis.

**Schnittebene 12:** Tuber vermis; Lobulus ansiformis; Paraflocculus; Flocculus; Nodulus; Nuc. fastigii; Nucc. interpositi cerebelli; Nuc. lateralis cerebelli; Nuc. vestibularis medialis; Nuc. vestibularis caudalis; Nucc. cochlearis; Nuc. tractus spinalis nervi trigemini; Nuc. motorius nervi facialis; Formatio reticularis.

**Schnittebene 13:** Tuber vermis; Pyramis; Uvula; Nodulus; Lobulus paramedianus; Nuc. motorius nervi hypoglossi; Nuc. tractus solitarius; Nuc. tractus spinalis nervi trigemini; Nuc. vestibularis medialis; Nuc. vestibularis caudalis; Nuc. motorius nervi facialis; Nuc. cuneatus lateralis; Formatio reticularis.

**Schnittebene 14:** Nuc. motorius nervi hypoglossi; Nuc. intercalatus; Nuc. ambiguus; Nuc. parasympathicus nervi vagi et glossopharyngei; Nuc. tractus solitarius; Nuc. tractus spinalis nervi trigemini; Nuc. gracilis; Nuc. cuneatus medialis; Nuc. cuneatus lateralis; Nuc.

funiculi lateralis; Nuc. olivaris accessorius dorsalis; Nuc. olivaris accessorius ventralis; Formatio reticularis.

**Schnittebene 15:** Nuc. motorius nervi hypoglossi; Nuc. ambiguus; Nuc. parasympathicus nervi vagi et glossopharyngei; Nuc. tractus solitarius; Nuc. tractus spinalis nervi trigemini; Nuc. gracilis; Nuc. cuneatus medialis; Nuc. cuneatus lateralis; Nuc. funiculi lateralis; Nuc. olivaris; Formatio reticularis.

**Schnittebene 16:** Nuc. ambiguus; Nuc. parasympathicus nervi vagi et glossopharyngei; Nuc. tractus spinalis nervi trigemini; Nuc. gracilis; Nuc. cuneatus medialis; Nuc. funiculi lateralis; Nuc. olivaris; Formatio reticularis.

#### 3.1.2.4.2 Histopathologische Präparation

Für die histopathologische Präparation wurden die Gewebestücke in aufsteigender Alkoholreihe entwässert, in Paraffin eingebettet und 5 µm dicke Schnitte angefertigt. Folgende Färbungen wurden durchgeführt: Hämatoxylin-Eosin (H.E.), Perjodsäure Schiff-Reaktion (PAS), Luxol-Fast-Blue-PAS, Ziehl-Neelsen und Berliner Blau. Für das Zentralnervensystem wurden zusätzlich die Färbungen mit Kresylviolett, Kresylviolett-Luxol-Fast-Blue, Bielschowsky, Holmes-Luxol-Fast-Blue und Kongorot verwendet. Von Formalin-fixiertem Material wurden außerdem Gefrierschnitte hergestellt und mit Sudan III und PAS gefärbt (**ROMEIS, 1989; AFIP, 1994**).

##### 3.1.2.4.2.1 Auswertung

Es wurde ein semiquantitatives Verfahren zur Gradierung der Veränderungen angewendet. Hierbei gilt:

- Veränderungen nicht nachweisbar
- (+) ganz geringgradige Veränderungen
- + geringgradige Veränderungen
- ++ mittelgradige Veränderungen
- +++ hochgradige Veränderungen

### 3.1.2.4.3 Immunhistochemische und lektinhistochemische Nachweisverfahren

#### 3.1.2.4.3.1 Immunhistochemie

Im ZNS wurden zytoplasmatisches Neurofilament (NF) und Glutamic acid decarboxylase (GAD) in Neuronen und Glial fibrillary acidic protein (GFAP) sowie Vimentin in den Astrozyten nachgewiesen. Hierzu wurde die Avidin-Biotin-Peroxidase-Komplex (ABC)-Methode an Paraffinschnitten verwendet.

##### 3.1.2.4.3.1.1 Seren und Antikörper

###### 1. Normalserum

###### a. Pferdeserum

Pferdeserum wurde für die Durchführung der ABC-Methode zum Nachweis von Vimentin benutzt. Das Blut wurde von Pferden gewonnen, die in der Medizinischen und Gerichtlichen Veterinärklinik I der Justus-Liebig-Universität Gießen eingestellt waren. Nach dreistündigem Stehen wurde es für 10 Minuten bei 3000 U/Minute zentrifugiert und das Serum abgesaugt.

###### b. Schweineserum

Schweineserum wurde für die Durchführung der ABC-Methode zum Nachweis von GFAP benutzt. Das Blut von Schlachtschweinen wurde nach dreistündigem Stehen für 10 Minuten bei 1500 U/Minute zentrifugiert und anschließend filtriert (Seitz Filter H7). Dem Serum wurde 0,05% Methiolat als Konservierungsmittel zugesetzt.

###### 2. Kontrollantikörper und Kontrollserum

Als Kontrollserum wurde ein monoklonaler Antikörper gegen T-Zelloberflächenantigen von Hühnerlymphozyten (T1) verwendet (**HIRSCHBERGER, 1987**). Als Kontrolle für den polyklonalen Antikörper diente das Serum gesunder Kaninchen, das nach dreistündigem Stehen durch Zentrifugation für 10 Minuten bei 1500g gewonnen wurde.

###### 3. Primäre Antikörper

Für den Nachweis von NF, GAD, Vimentin und GFAP wurden kommerziell erhältliche monoklonale bzw. polyklonale Antikörper in verschiedenen Verdünnungen verwendet. Antikörper, verwendete Verdünnungen, Spezifität der primären Antikörper und Herkunft sind in Tabelle 4 aufgeführt.

#### 4. Sekundäre Antikörper

Als sekundärer Antikörper für den Kaninchen-Anti-GAD und Kaninchen-Anti-Rind-GFAP-Antikörper diente kommerziell erhältliches biotinyliertes Ziege-Anti-Kaninchen-Immunglobulin (Vector Laboratories Inc., Burlingame CA, USA, Codenummer BA 1000). Als sekundärer Antikörper für den Maus-Anti-Schwein-Vimentin-Antikörper wurde kommerziell erhältliches biotinyliertes Pferd-Anti-Maus-IgG (H+L) (Vector Laboratories Inc., Burlingame CA, USA, Codenummer BA 2000) verwendet.

#### 5. Tertiärer Antikörper

Es wurde ein kommerziell erhältlicher Avidin-Biotin-Peroxidase-Komplex (ABC) (Vector Laboratories Inc., Burlingame CA, USA, Codenummer K 4000) verwendet.

### 3.1.2.4.3.1.2 Durchführung der ABC-Methode

Die ABC-Methode wurde nach folgender Arbeitsvorschrift durchgeführt:

1. Aufziehen der 3-4 µm dicken Paraffinschnitte auf elektrostatisch geladene Objektträger (Superfrost Plus<sup>0</sup>). Trocknen je 2 Stunden bei Raumtemperatur und bei 50° C im Trockenschrank.
2. Entparaffinieren der Schnitte in Roti-Histol<sup>®</sup> für 10 Minuten. Rehydrierung in der absteigenden Alkoholreihe (zweimal Isopropylalkohol für je 3 Minuten und einmal in 96%igem Isopropylalkohol für 3 Minuten).
3. Inaktivierung der endogenen Peroxidase für 30 Minuten in Methanol mit 0,5% frisch zugesetztem H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Perhydrol<sup>®</sup>).
4. Überführen der Schnitte in TBS. Umranden der Gewebeschnitte mit einem PAP-Pen<sup>®</sup> (PAP Pen PP, SCI Science Services, München) oder Einbringen der Objektträger in den Schnittinkubator Sequenza (Shandon, Frankfurt/M).
5. Inkubation mit Normalserum für 30 Minuten bei Raumtemperatur.

6. Auftragen des primären Antikörpers bzw. des Kontrollserums (Verdünnung wie der primäre Antikörper). Inkubation für etwa 15 Stunden bei 4°C in einer feuchten Kammer.
7. Dreimaliges Spülen der Schnitte mit TBS für je 5 Minuten.
8. Auftragen des sekundären Antikörpers. Inkubation für 30 Minuten bei Raumtemperatur in einer feuchten Kammer.
9. Dreimaliges Spülen der Schnitte mit TBS für je 5 Minuten.
10. Auftragen des ABC. Hierzu wurden 30 Minuten vor Gebrauch Avidin DH und biotinylierte Meerrettichperoxidase in einer Konzentration von jeweils 9 µl/ml TBS gemischt. Die Inkubation erfolgte für 30 Minuten bei Raumtemperatur in einer feuchten Kammer.
11. Dreimaliges Spülen der Schnitte mit TBS für je 5 Minuten.
12. Inkubation der Schnitte für 10 Minuten bei Raumtemperatur unter ständigem Rühren (Magnetrührer) in 0,05% 3,3-Diaminobenzidintetrahydrochlorid (DAB) mit 0,01% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in 0,1 M Imidazol/HCl-Puffer (pH 7,1).
13. Spülen der Schnitte dreimal in TBS für je 5 Minuten, danach einmal spülen in Aqua dest. für 2 Minuten.
14. Gegenfärben mit Papanicolaou's Hämatoxylin für 10 Sekunden und Bläuen der Schnitte in Leitungswasser für 5 Minuten und anschliessend für eine Minute in Aqua dest.
15. Entwässern der Schnitte in einer aufsteigenden Alkoholreihe (50-, 70-, 80- und 96%igem Isopropylalkohol für jeweils 3 Minuten und zweimal in Isopropylalkohol für je 3 Minuten) und anschließendes Eindecken der Schnitte mit Eukitt® (Corbit-Balsam).

#### **3.1.2.4.3.1.2.1 Besondere Verfahren**

Beim Nachweis von GFAP wurde nach der Blockierung der endogenen Peroxidase (3.1.2.4.3.1.2) eine Triton® X-100 (Serva, Heidelberg) und Trypsin-Behandlung eingefügt.

Methode:

- Zweimaliges Spülen der Schnitte für 5 Minuten in TBS.

- Vorbehandeln der Schnitte in 0,25% Triton<sup>®</sup> X-100 Lösung für 15 Minuten bei Raumtemperatur.
- Zweimaliges Spülen der Schnitte für 5 Minuten in TBS.
- Vorbehandeln der Schnitte in 0,25% Trypsin in Aqua dest. mit 0,02% CaCl<sub>2</sub>, pH 7,6, für 60 Minuten, 37°C.
- Zweimaliges Spülen der Schnitte für 5 Minuten in TBS.

**Tabelle 4: Antikörper, verwendete Verdünnung, Spezifität und Herkunft der primären Antikörper**

Primäre Antikörper	Verdünnung	Spezifität	Herkunft
Maus-Anti-Humanneurofilament Klon 2 F11	1:400 (in TBS)	70 und 200 KDa Komponente von Humanneurofilament mit Kreuzreaktion gegen Ratten-NF	Dako Diagnostika GmbH, Code Nr. M 762
Kaninchen Anti-GAD	1:500 (in TBS)	65 und 65 kDa von GAD	Chemicon International Inc. Code Nr. AB1511
Maus-Anti-Schwein-Vimentin Klon V9	1:50 (in TBS)	57 KDa intermediäres Protein aus mesenchymalen Zellen mit Kreuzreaktion gegen Vimentin	Dako Diagnostika GmbH, Code Nr. MO 725
Kaninchen-Anti-Rind-GFAP	1:500 (in TBS mit 20% Schweineserum)	GFAP	Dako Diagnostika GmbH, Code Nr. ZO 334

### 3.1.2.4.3.1.3 Immunzytochemische Kontrollen

Die Spezifität der zytochemischen Reaktion zum Nachweis von Neurofilament, GFAP und Vimentin wurde anhand folgender Kontrollen überprüft:

1. Folgeschnitte des zu untersuchenden Gewebeschnittes wurden mit dem unter 3.1.2.4.3.1.1 angegebenen Kontrollantikörper bzw. Kontrollserum inkubiert.

2. Als Positivkontrolle dienten Schnitte von Gewebelöcken, bei denen das Nachweisergebnis aus früheren Untersuchungen positiv war.

#### **3.1.2.4.3.1.4 Auswertung**

Als positiv bewertet wurden hell- bis dunkelbraune DAB-Präzipitate, die sich in der gleichen Ebene wie der Gewebeschnitt befanden und in den Kontrollschnitten von den nicht mit *Ipomoea fistulosa* vergifteten Tieren nicht zu finden waren.

#### **3.1.2.4.3.2 Lektin histochemie**

Der Nachweis der Oligosaccharidreste erfolgte nach der von **ALROY (1984)** beschriebenen ABC-Methode an Paraffinschnitten. Es wurden Gehirn, Kleinhirn, Rückenmark, periphere Ganglien und Nerven, Leber, Pankreas, Schilddrüse, Herz, Niere, Lnn. mandibularis, cervicalis superficialis, mediastinalis und mesenterialis untersucht.

##### **3.1.2.4.3.2.1 Biotinylierte Lektine**

Die verwendeten biotinylierten Lektine, jeweilige Abkürzung, Verdünnung, erfaßte Zuckerreste, rezeptorblockierender Zucker und Herkunft sind in Tabelle 5 aufgelistet.

##### **3.1.2.4.3.2.2 Durchführung der ABC-Methode unter Verwendung biotinylierter Lektine**

1. - 4. wie 3.1.2.4.3.1.2
5. Auftragen des zentrifugierten Schweineleberpulvers 100 mg/ml TBS für 30 Minuten bei Raumtemperatur, um unspezifische Bindungsstellen der Lektine zu blockieren. Einmaliges Spülen der Schnitte für 5 Minuten in TBS.
6. Auftragen des Lektins 0,5 µg/ml TBS sowie des Lektins 0,5 µg/ml mit entsprechendem rezeptorblockierendem Zucker in 0,1 M TBS als negative Kontrolle (mindestens 2 Stunden vor Gebrauch ansetzen).
7. Inkubation für etwa 15 Stunden bei 4°C in einer feuchten Kammer.
8. - 15. wie 3.1.2.4.3.1.2

**Tabelle 5: Biotinylierte Lektine, die zur Identifizierung der Oligosaccharidreste verwendet wurden**

Ursprung der Lektine	Abkürzung der Lektine	Verdünnung $\mu\text{g/ml}$	Erfasste Zuckerreste	Rezeptor-blockierender Zucker (0,1 M)	Herkunft Lektin / Zucker
Arachis hypogea	PNA	0,5	Gal- $\beta$ -(1-3)-GalNAc <sup>1</sup>	Lac	Sigma, L6135 <sup>2</sup> / Sigma, L1768
Bandeira simplicifolia	BS-I	0,5	$\alpha$ -D-Gal	Lac, D-GalNAc	Sigma, L3759 / Sigma, L1768; A2795
Concanavalia ensiformis	Con-A	0,5	$\alpha$ -Glc, $\alpha$ -D-Man	$\alpha$ Methyl-Man	Sigma, L2272 / Sigma, M6882
Dolichos biflorus	DBA	0,5	$\alpha$ -D-GalNAc	$\alpha$ -D-GalNAc	Sigma, L6533 / Sigma, A2795
Glycine max	SBA	0,5	$\alpha$ -D-GalNAc, $\alpha$ -D-Gal	$\alpha$ -D-GalNAc	Sigma, L3695 / Sigma, A2795
Lens culinaris	LCA	0,5	$\alpha$ -Glc, $\alpha$ -D-Man	$\alpha$ Methyl-Man	Sigma, L4143 / Sigma, M6882
Ricinus communis	RCA	0,5	$\beta$ -D-Gal	Lac	Sigma, L2641/ Sigma, A2795
Triticum vulgare	WGA	0,5	$[\beta$ -(1-4)-D-GlcNAc] <sub>2</sub> NeuNAc	NeuNAc	Sigma, L5142/ Sigma, A0812
Succinyl-T. vulgare	S-WGA	0,5	$[\beta$ -(1-4)-D-GlcNAc] <sub>2</sub>	$\beta$ -D-GlcNAc	Vectro, B10255/ Sigma, A8625
Ulex europeus	UEA-I	0,5	$\alpha$ -L-Fucose	$\alpha$ -L-Fucose	Sigma, L8262/ Sigma, F2252

<sup>1</sup> Gal = Galaktose; Glc = Glukose; Man = Mannose; GalNAc = *N*-Acetylgalaktosamin; GlcNAc = *N*-Acetylglukosamin; NeuNAc = *N*-Acetylneuraminsäure; Lac = Lactose. <sup>2</sup> Code Nummer

### 3.1.2.4.3.2.3 Lektin histochemische Kontrollen

Die Spezifität der histochemischen Reaktion zum Nachweis der Oligosaccharidreste auf der Vakuolenmembran wurde anhand folgender Kontrollen überprüft:

1. Folgeschnitte des zu untersuchenden Gewebeschnittes wurden mit dem unter 3.1.2.4.3.2.1 angegebenen rezeptorblockierenden Zucker inkubiert.

2. Schnitte von Gewebestücken der nicht mit *Ipomoea fistulosa* vergifteten Ziegen wurden mit den Lektinen und dem korrespondierenden rezeptorblockierenden Zucker inkubiert.

#### 3.1.2.4.3.2.4 Auswertung

Die Reaktionsprodukte wurden in den im Zytoplasma vorhandenen Vakuolen aller Zelltypen in den verschiedenen Geweben beurteilt. Als positiv bewertet wurden hell- bis dunkelbraune DAB-Präzipitate in der Vakuolenmembran, die sich in der gleichen Ebene wie der Gewebeschnitt befanden und in den Kontrollschnitten nicht zu finden waren. Die semiquantitative Auswertung der Reaktion erfolgte nach folgendem Schema:

- histochemische Reaktion nicht nachweisbar
- + geringgradige histochemische Reaktion
- ++ mittelgradige histochemische Reaktion
- +++ hochgradige histochemische Reaktion

#### 3.1.2.4.4 Transmissionselektronenmikroskopische Präparation

Sofort nach der Tötung wurden ein bis zwei Kubikmillimeter große Gewebestücke aus Lobus frontalis, Hippocampus, Vermis cerebelli, Pyramide und Rückenmark (C1) von drei Ziegen (5069, 5075, 5074) und des Vermis cerebelli von zwei Ziegen (5080, 5081), außerdem aus Pankreas und Nebenniere der Ziege 5074 entnommen. Die Gewebe wurden in 3%igem Glutaraldehyd (0,1 M Na-Cacodylatpuffer, pH 7,4, 4 °C) für ca. 24 Stunden immersionsfixiert. Die Nachfixierung erfolgte in 1%igem Osmiumtetroxid (0,1 M Na-Cacodylatpuffer, pH 7,4, 4°C). Nach der Entwässerung in der aufsteigenden Acetonreihe wurden die Blöcke in Epon<sup>®</sup> eingebettet. Zur Orientierung wurden 0,5 - 1 µm dicke Semidünnschnitte mit einem Glasmesser auf einem Ultramikrotom (Ultracut E, Fa. Reichert) angefertigt und mit Methylblau gefärbt. Die interessierenden Stellen wurden herausgetrimmt und mit einem Diamantmesser (Delaware Diamond Knives Inc. Wilmington USA) im Bereich von Grau- bis Silber-Interferenz dünn geschnitten. Anschließend wurden die Dünnschnitte auf

unbefilmte Kupferträgernetzchen mit quadratischen Maschen (G 100 HEX, Science Services, München) aufgezogen, 30 Minuten mit 11%igem alkoholischen Uranylazetat und 15 Minuten mit 1%igem Bleizitrat kontrastiert und in einem Elektronenmikroskop (EM10C Fa. Carl Zeiss, Oberkochen) untersucht. Als Aufnahmematerial dienten Scientia EM Filme (Agfa Gevaert AG, Leverkusen).

#### **3.1.2.4.5      Statistische Auswertung**

Die Datenhaltung und -auswertung sowie die Erstellung der graphischen Abbildungen im Rahmen der Ergebnispräsentation erfolgte auf den Rechnern im lokalen Rechnernetzwerk (LAN) der Arbeitsgruppe Biomathematik und Datenverarbeitung des Fachbereiches Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen. Die statistischen Auswertungen wurden unter Verwertung des Statistikprogrammpaketes BMDP/Dynamic, Release 7.0 (**DIXON, 1993**) durchgeführt. Die grafischen Abbildungen wurden auf einem Personalcomputer mit dem Programm Microsoft Excel 97 erzeugt. Zur Beschreibung der Daten wurden arithmetische Mittelwerte und Standardabweichungen berechnet und tabellarisch wiedergegeben. Die Untersuchung der Zusammenhänge erfolgte bei den quantitativen Merkmalen mit Hilfe von Korrelationsanalysen mit dem Programm BMDP6D unter Angaben des Korrelationskoeffizienten und der Regressionsgeraden. Das Signifikanzniveau wurde auf 5% festgestellt.

## 3.2 Ergebnisse

### 3.2.1 Spontane Vergiftung

#### 3.2.1.1 Anamnese

Die Befragung der Tierhalter ergab, daß sich seit November 1992 im Flußtal des São Francisco eine Dürreperiode entwickelt hatte. In der darauf folgenden Zeit wurden bei vielen Rindern, Schafen und Ziegen Mangelernährung, verminderte Reproduktionsraten und Aborte, Parasitosen sowie verschiedene akute Pflanzenvergiftungen beobachtet. Im ganzen Gebiet trockneten die zahlreichen Stauseen („açudes“) aus, in denen dann wegen der noch vorhandenen Feuchtigkeit im Boden *Ipomoea fistulosa* aktiv zu sprossen begann (Abb. 9a, b). Auch an den Ufern kleinerer Flüsse nahm dieser Strauch stark an Wachstum zu. Wegen sonst fehlender grüner Vegetation hatten die Tiere keine andere Wahl, als sich von den Blättern dieses Busches notdürftig zu ernähren. Vergiftung mit *Ipomoea fistulosa* hatte nicht nur den Tod von mehr als der Hälfte der Ziegenpopulation zur Folge, sondern auch Rinder und Schafe starben. Bis Oktober 1993 war der Großteil dieser Tiere verendet. Die restlichen Tiere wurden zur Verwertung geschlachtet, andere Tiere gesundet oder befanden sich in der Rekonvaleszenz. Ungefähr 20 % aller betroffenen Ziegen litten unter deutlichen Nachwirkungen der Vergiftung mit *Ipomoea fistulosa*.

Nach Meinung der Züchter tritt die Vergiftung mit dieser Pflanze regelmäßig jedes Jahr auf. Die Krankheit ist unter den Namen Vergiftung mit „canudo“ bzw. „mata cabra“ allgemein bekannt. Die ersten erkrankten Tiere werden zwischen dem dritten und vierten Monat nach dem Ende der Regenzeit beobachtet, d. h. normalerweise zwischen August und September. Mit dem Beginn der Regenzeit im November treten keine Erkrankungen dieser Art mehr auf. Der Mangel an Nahrung in der „Caatinga“ ist der wichtigste Faktor für die Aufnahme von *Ipomoea fistulosa*, da der Busch während der langen Trockenzeit die einzige grüne Pflanze darstellt. Ein anderer wichtiger Faktor nach Meinung der Züchter

ist, daß die Tiere, wenn sie einmal diese Pflanze aufgenommen haben, „süchtig“ danach werden und sie weiter fressen, auch wenn anderes Futter zur Verfügung steht. Demnach wird *Ipomoea fistulosa* auch dann bevorzugt aufgenommen, wenn gleichzeitig Futter von sehr guter Qualität angeboten wird. Die Krankheit befällt Ziegen verschiedenen Alters ausser den Lämmern. Erste Symptome sind etwa einen Monat nach der ersten Aufnahme dieser Pflanze zu beobachten. Der Krankheitsverlauf beträgt ungefähr zwei bis drei Monate. Alle Tiere, die *Ipomoea fistulosa* ununterbrochen aufnehmen, sterben. Wird die Aufnahme unterbrochen, kommt die Erkrankung zum Stillstand und die Tiere erholen sich innerhalb weniger Monate. Für die Züchter sind folgende Symptome bei der Ziege charakteristisch: progressive Abmagerung, Verlangsamung in Verhalten und Bewegung, Torkeln bis hin zu steifen, vorwiegend seitwärts gerichteten und orientierungslosen Bewegungen. Im Endstadium der Erkrankung zeigen die Tiere eine hochgradige Abmagerung (sie sind „secos“, vertrocknet), fallen spontan um, es kommt zum Dekubitus und sie verenden schließlich, zum teil erst nach Monaten. Obwohl Folgeschäden wie hgr. Abmagerung und schwankender Gang bestehen bleiben, können betroffene Tiere dennoch tragend werden und augenscheinlich gesunde Lämmer gebären.

Im Dezember 1991 wurden uns aus der Gemeinde von Itaguaí-RJ eine männliche, sechs Monate alte Mischlingsziege gebracht, welche hgr. neurologische Symptome zeigte. Vorberichtlich wurde das Tier auf einer kleinen Weide gehalten, in der *Ipomoea fistulosa* als Gartenpflanze wuchs und gleichzeitig auch als Zaun fungierte. Einen Monat nach Verbringen auf diese Grünfläche setzten neuromotorische Störungen ein, und die Ziege wurde schließlich drei Monate nach Auftreten der ersten Symptome getötet. In dieser Gemeinde sowie in dem ganzen Tiefland des Staates von Rio de Janeiro, der „Baixada Fluminense“, ist *Ipomoea fistulosa* sehr verbreitet und wächst dort teils als dichtes Buschwerk, bevorzugt auf feuchtem Boden und in Überschwemmungsgebieten.

### 3.2.1.2 Identifizierung der Pflanze

Die Pflanzen aus Petrolina, Juazeiro und Itaguaí wurden als *Ipomoea fistulosa* aus der Familie der Convolvulaceae identifiziert (Abb. 9a).

### 3.2.1.3 Klinische Symptome

Bei der Adspektion aus größerer Entfernung zeigten die meisten erkrankten Tiere langsame und unbeholfene Bewegungen. Im Stand war ein aufgekrümmter Rücken bei breitgestellten Gliedmaßen auffällig. Ab und zu wurde diese Haltung durch ein Schütteln des Kopfes und der Ohren unterbrochen. Der Gang zeichnete sich durch kurze, steife Schritte aus. Kopf und Hals wiesen eine hohe starre Haltung auf. Bei schnellerer Bewegung wurden Straucheln, unkoordinierte Bewegungen und Umfallen beobachtet. Liegende Tiere wurden oft in sternal-abdominaler Stellung angetroffen, wobei die Vorderläufe starr nach vorne ausgestreckt waren. Auch traten angedeutete intermittierende Dorsoflexion des Kopfes (Opisthotonus-ähnliche Bewegung) auf. Der Appetit erschien ungestört.

Anschließend wurden die Tiere eingefangen und klinisch untersucht. Hierbei konnte eine deutliche Verstärkung der beschriebenen Symptome festgestellt werden, und selbst Tiere, die bei der Adspektion noch unauffällig erschienen, zeigten nun deutliche neurologische Erscheinungen (5115, 5116, 5117, 5118). Alle Ziegen waren abgemagert und anämisch. Bei der „Aufsteh-Prüfung“ war keines der Tiere fähig, spontan in die sternal-abdominale Stellung zu gelangen und anschließend aufzustehen (Abb. 10a). Kam ein Tier zum Stehen, zeigte es hochgradige Gleichgewichtsstörungen, Hypermetrie, Dysmetrie sowie Störungen in der kontralateral-alternierenden Schrittfolge. Auffällig war weiterhin eine deutliche Hinterhandschwäche, die bei Aufstehversuchen oft dazu führte, daß das Tier nach hinten überfiel (Abb.10b). Bei den Stellreaktionen wurden eine Hypertonie des Halses und eine Hyperextension der Vordergliedmaßen bei zwei Ziegen beobachtet. Drei Ziegen zeigten Patellar- und Pannikulushyperreflexie. Die übrigen Tiere zeigten dagegen eine Hyporeflexie. Die Schmerzempfindlichkeit erschien bei den Tieren 5113 und 5114 reduziert.

Eine deutliche Muskelschwäche wurde bei den Ziegen 5113 und 5123 festgestellt. In Tabelle 6 sind die wichtigsten neurologischen Symptome aufgeführt.

#### **3.2.1.4 Obduktionsbefunde, Histopathologie und Lektinhistochemie**

Die Obduktionsbefunde sowie die histopathologischen und lektinhistochemischen Veränderungen werden im Zusammenhang mit den experimentellen Fällen beschrieben.

### **3.2.2 Experimentelle Intoxikation**

#### **3.2.2.1 Dosis und Verlauf**

In allen drei Versuchsgruppen erwies sich *Ipomoea fistulosa* als toxisch für die Ziege (Tabelle 7). Es konnte kein statistisch signifikanter Unterschied bezüglich der Futteraufnahme bzw. der aufgenommenen Dosis und der Überlebensdauer sowie der Gewichtsabnahme zwischen den drei Gruppen nachgewiesen werden. Die beobachtete individuelle Futteraufnahme der Tiere in allen drei Gruppen konnte jedoch sehr unterschiedlich sein. In den Abbildungen 11 (Gruppe 1, n = 3), 12 (Gruppe 2, n = 6) und 13 (Gruppe 3, n = 3) sind die individuellen Futteraufnahmemengen im Grünfütter für jedes Tier dargestellt. Tiere, die ausschließlich mit *Ipomoea fistulosa* gefüttert wurden (Gruppe 1), zeigten eine deutliche Bevorzugung für frisches grünes Gras, wenn dies alternativ zu *Ipomoea fistulosa* angeboten wurde. Drei Ziegen, die mit 50% *Ipomoea fistulosa* gefüttert wurden (Gruppe 2), zeigten ebenfalls eine Präferenz für grünes Gras, die übrigen drei Tiere hatten dagegen ein indifferentes Futteraufnahmeverhalten. Zwei der drei Ziegen aus Gruppe 3, welche mit 25% *Ipomoea fistulosa* gefüttert wurden, zeigten eine Bevorzugung für diese Pflanze und das dritte Tier wiederum eine indifferente Nahrungsaufnahme. In der ersten Versuchswoche wurde ein Gewichtsverlust bei allen Tieren festgestellt. Danach erlangten mit Ausnahme der Ziege 5075 alle Tiere ihr Ausgangsgewicht zurück und zeigten bis zum ca. 40. Versuchstag eine Gewichtszunahme. Anschließend kam es zu einer kontinuierlichen Abmagerung.

### 3.2.2.1.1 Durchschnittliche Aufnahme von *Ipomoea fistulosa* (Dosis in Trockenmasse) und Verlauf vom ersten Versuchstag bis zum Tod der Tiere

Lediglich eine Ziege (5073) verendete spontan am 83. Versuchstag bei einer Dosis von 4,7 g/kg KM/Tag. Moribunde Tiere wurden zwischen dem 53. (5075) und 105. Tag (5070) nach Versuchsbeginn euthanasiert. Die aufgenommene Menge an *Ipomoea fistulosa* variierte zwischen 14,9 (5069) und 5,2 (5072) g/kg KM/Tag.

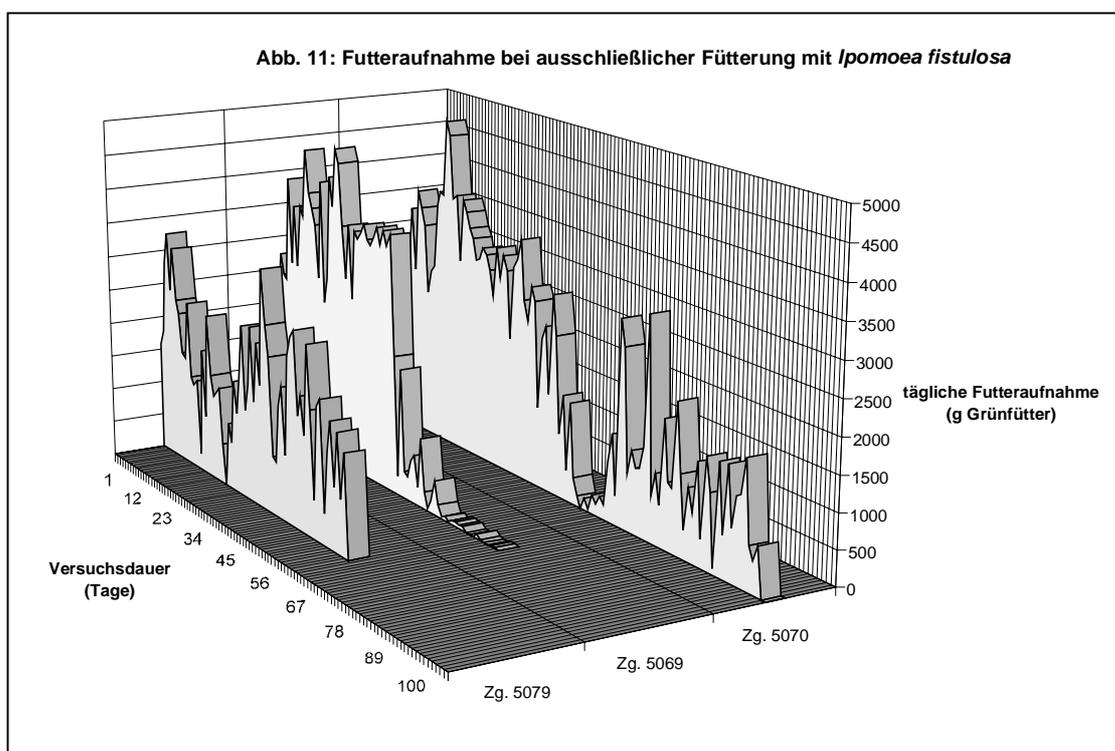
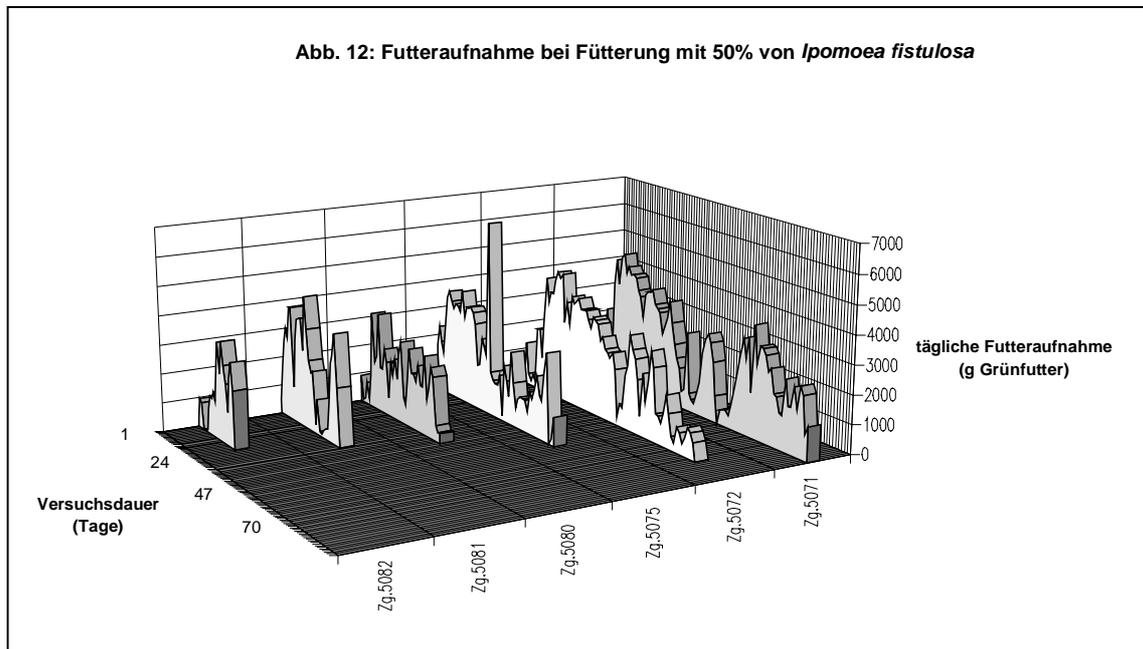
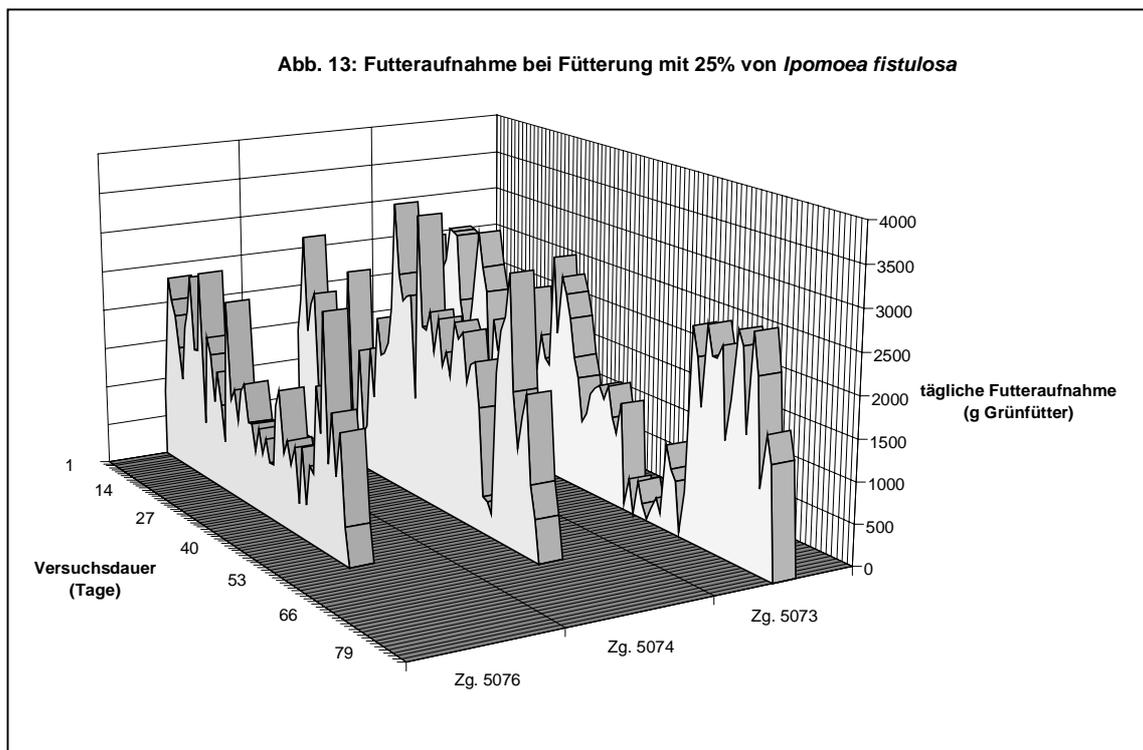


Abb. 12: Futteraufnahme bei Fütterung mit 50% von *Ipomoea fistulosa*Abb. 13: Futteraufnahme bei Fütterung mit 25% von *Ipomoea fistulosa*

### **3.2.2.1.2 Durchschnittliche Aufnahme von *Ipomoea fistulosa* (Dosis in Trockenmasse) und Verlauf vom ersten Versuchstag bis zum ersten Symptom**

Bei einer Dosis von 22,8 (5069) und 2,7 (5074) g/kg KM/Tag wurden die ersten Symptome zwischen dem 22. (5070) und 42. (5072) Versuchstag festgestellt.

### **3.2.2.1.3 Durchschnittliche Aufnahme von *Ipomoea fistulosa* (Dosis in Trockenmasse) und Verlauf vom ersten Symptom bis zum Tod**

Ziege 5073 starb 58 Tage nach dem Auftreten erster Symptome bei einer Dosis von 4,5 g/kg KM/Tag. Die moribunden Ziegen wurden innerhalb von 12 (5075) und 83 (5070) Tagen nach Auftreten erster Symptome euthanasiert bei einer Dosis von 12,0 (5069) und 3,3 g/kg KM/Tag (5075).

### **3.2.2.2 Klinische Untersuchung**

Die klinische Manifestation der Vergiftung mit *Ipomoea fistulosa* war durch eine hochgradige Abmagerung und nervöse Störungen gekennzeichnet.

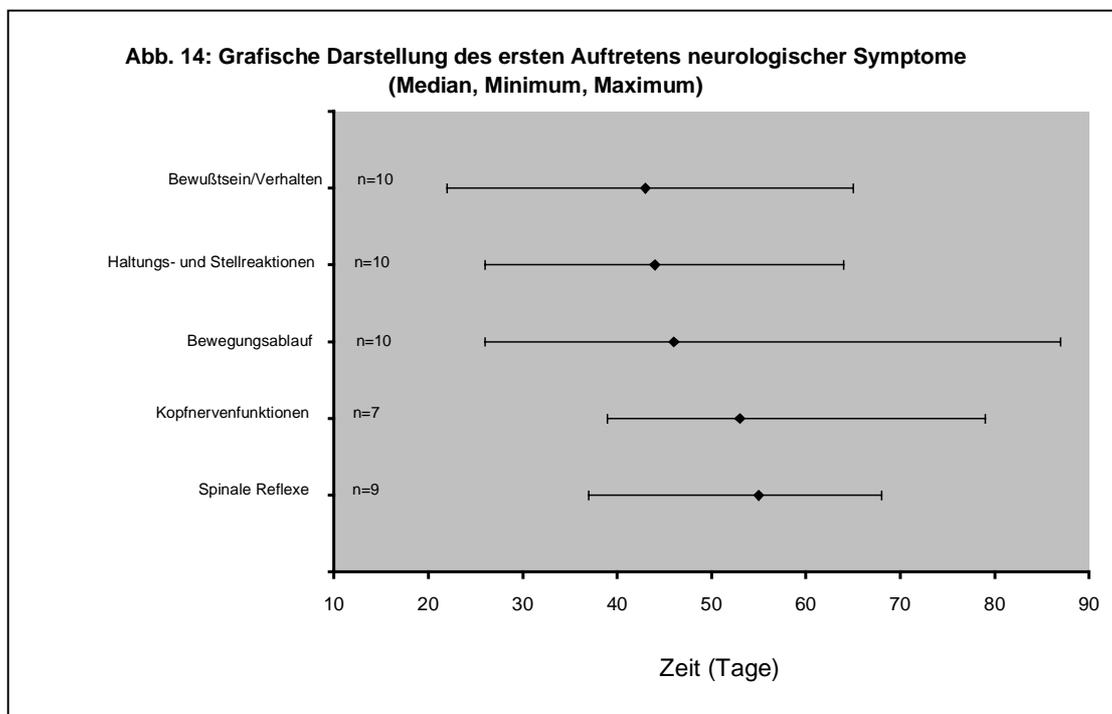
#### **3.2.2.2.1 Allgemeine Symptomatik**

Allgemein zeigten die Tiere seit Beginn des Fütterungsversuches eine unvollständige Pansenmotilität, und die Frequenz des Wiederkäuens erschien, insbesondere bei Tieren der Gruppen 1 und 2, herabgesetzt. Das Kotvolumen war geringgradig vermindert bei deutlich verkleinerten Kotkugelchen, welche dunkler und fester als normal erschienen. Abgesetzter Harn wies auf seiner Oberfläche einen silberfarbenen Schleier auf. Herz- und Atemfrequenz wichen zeitweilig nach oben oder unten von der physiologischen Norm ab.

#### **3.2.2.2.2 Neurologische Symptome**

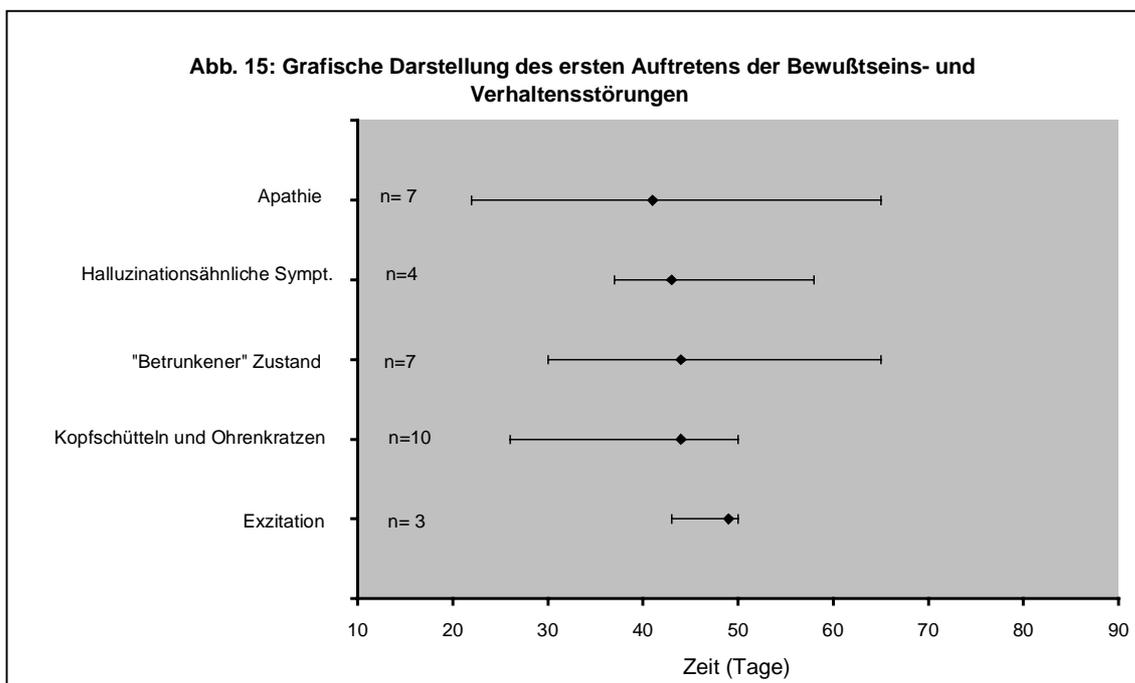
Den zentralnervösen Symptomen wurde besondere Aufmerksamkeit geschenkt. Diese charakterisierten sich durch Bewußtseins- und Verhaltensstörungen sowie

Störungen in der Motorik. Viele dieser Symptome wurden in einer bestimmten Phase der Erkrankung und in unterschiedlicher Ausprägung beobachtet. Motorische Störungen des Bewegungsablaufes gehörten mit Störungen der Haltungs- und Stellreaktionen zu den ersten und am stärksten ausgeprägten Symptomen. Diese nahmen in ihrer Ausprägung mit dem Verlauf der Erkrankung zu. Allgemein kam es dabei teils zu einer Überlagerung, teils zu alternierenden nervösen Ausfallserscheinungen. Auch Bewußtseins- und Verhaltensstörungen traten schon relativ früh auf, während solche der spinalen Reflexe und der Kopfnervenfunktionen oft erst in späteren Krankheitsphasen in Erscheinung traten (Abb. 14). In Tabelle 8 ist eine Zusammenfassung der zentralnervösen Symptome zwischen dem 50. und dem 65. Versuchstag wiedergegeben. Tabelle 9 faßt chronologisch das erste Auftreten bestimmter neurologischer Symptome während des Versuches für jedes Tier zusammen. Tabelle 10 listet für jedes Versuchstier die individuellen neurologischen Ausfallserscheinungen am Tag des Todes auf.



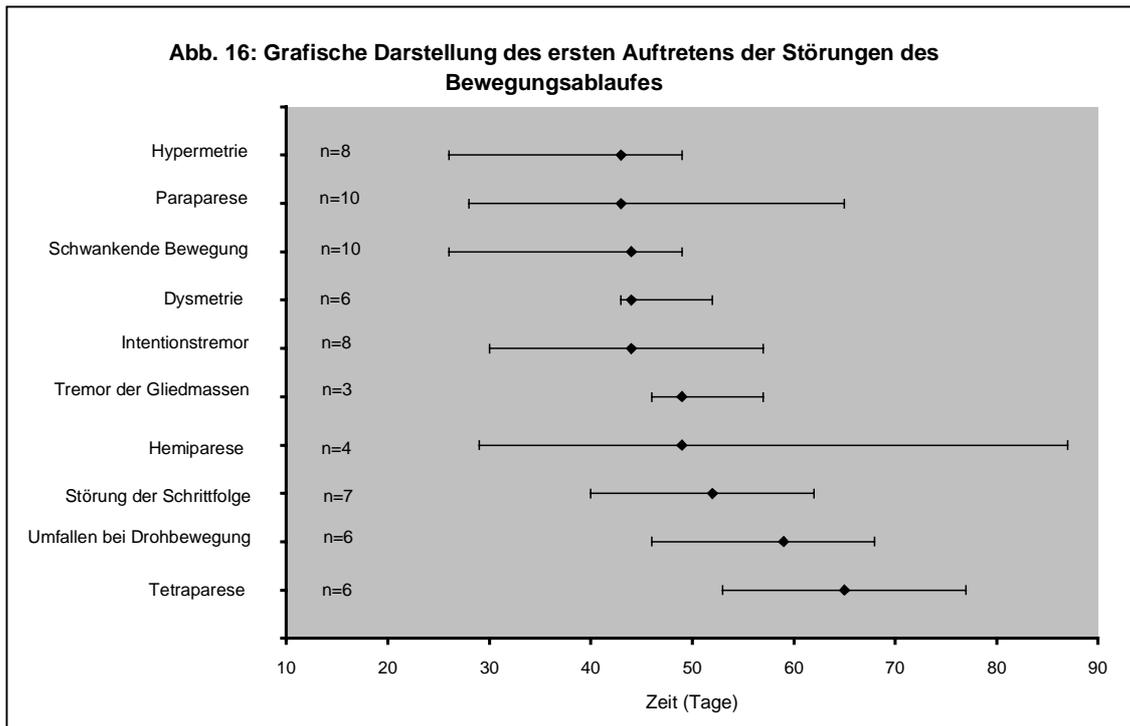
### 3.2.2.2.1 Bewußtseins- und Verhaltensstörungen

Bewußtseins- und Verhaltensstörungen wurden bei allen Versuchstieren festgestellt (Abb. 15). Anfangs zeigten die Tiere Somnolenz. Charakteristisch waren Apathie, „betrunkene“ und/oder halluzinationsähnliche Zustände. Im weiteren Verlauf verharrten die Tiere lange Zeit in der sternal-abdominalen Stellung oder standen, wobei in beiden Positionen ein starrer Blick und Mydriasis auffällig waren. Die Gesichtsmuskulatur wies bei einem Teil der Tiere eine deutliche Kontraktion auf. Weiterhin wurden stumpfsinniges Verhalten, leeres Kauen, Zähneknirschen, Kopfschütteln sowie heisere, teils krampfartig übermäßige Lautäußerungen festgestellt (5070, 5071). Vier Ziegen (5069, 5070, 5071, 5073) zeigten zusätzlich halluzinationsähnliche Symptome, welche sich darin äußerten, daß sie zeitweise fiktiven Objekten nachschauten. Bei drei weiteren Tieren wurden zusätzlich anfallsartige exzitatorische Zustände festgestellt (5072, 5070, 5073).



### 3.2.2.2.2 Bewegungsstörungen

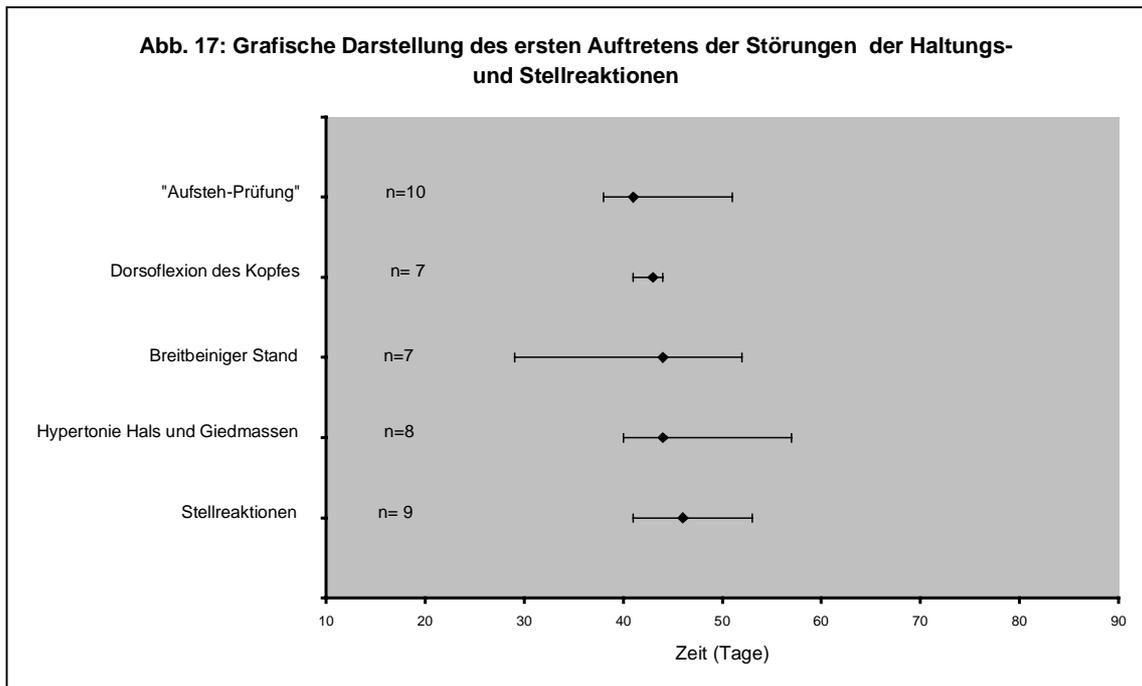
Charakteristische motorische Symptome zeichneten sich bei allen Ziegen durch die Unfähigkeit aus, koordinierte und willkürliche Bewegungen auszuführen. Bei manchen Tieren dominierte eine Störung der Koordination (Ataxie), während bei anderen eine Störung in der willkürlichen Bewegung (Parese) überwog. Letztere trat in stärkerer Ausprägung gewöhnlich erst in späteren Stadien der Erkrankung auf (Abb. 16). Zu Beginn der ersten Vergiftungssymptome waren verkürzte, steife Schritte bei hochoberer, starrer Kopf- und Halshaltung und eine breitbeinige Stellung im Stand auffällig. In der Versuchsphase, in der sich die klinischen Symptome manifestierten, lagen insbesondere ein Intentionstremor des Kopfes und Halses sowie Hyper- und/oder Dysmetrie vor (Abb. 10c). Letztere traten zunächst an einer oder beiden Vordergliedmaßen, später an allen vier Gliedmaßen auf. Auf eine Drohbewegung hin reagierten die Tiere mit einer entgegengesetzten Bewegung von Beinen und Körper, welche in manchen Fällen zum unwillkürlichen Umfallen des Tieres führte. Drei Ziegen entwickelten schnell aufeinanderfolgende unvollständige willkürliche Bewegungen insbesondere der Vordergliedmaßen (Tremor). Bei dem Versuch, Hindernisse zu bewältigen (Ring, Stufe, Schräge) fielen die Tiere unkoordiniert in das Hindernis. Die Ziegen 5072, 5076 und 5079 zeigten einen Tremor der Vordergliedmassen, beim Laufen eine ausgeprägte Dysmetrie sowie Störungen in der kontralateral-alternierenden Schrittfolge. Die meisten Tiere wiesen im Gang seitlich schwankende Bewegungen des Körpers, gebeugte Gliedmaßen, besonders der Hinterhand, und eine breitbeinige Stellung auf. Vom Beginn der Symptome an konnte bei den meisten Ziegen eine Schwächung und schließlich eine Unfähigkeit, den Hinterkörper zu erheben beobachtet werden (Paraparese). Beim Versuch, aufzustehen bzw. beim Harnabsatz insbesondere weiblicher Tiere, kam es häufig zum rückwärtigen Umkippen. Die Ziegen 5069, 5071, 5073 und 5075 zeigten eine Hemiparese.



### 3.2.2.2.3 Haltung- und Stellreaktionen

Störungen der Haltung- und Stellreaktionen gingen deutlichen Bewegungsstörungen gewöhnlich voraus (Abb. 17).

Die Haltung war durch breiten Stand und ausgeprägte Dorsoflexion des Kopfes charakterisiert. Es konnte eine intermittierende Dorsoflexion des Kopfes beobachtet werden, welche im weiteren Krankheitsverlauf, in dem sich die Tiere überwiegend in der sternal-abdominalen Stellung befanden, am deutlichsten ausgeprägt war. In diesem Stadium wurden alle Gliedmaßen steif nach vorne weggestreckt. Allgemein wies die Muskulatur von Kopf, Hals und Vordergliedmaßen eine hochgradige Hypertonie bzw. Hyperextention auf, insbesondere dann, wenn ein physischer oder akustischer Reiz erfolgte. Bei der Prüfung der Stellreaktion zeigten alle Ziegen eine ausgeprägte steife, gespreizte Gliedmaßenstellung der Vorderläufe. Bei der Schubkarrenprobe wurden gleiche Reaktionen festgestellt, zusätzlich konnten sich die Tiere nicht fortbewegen und die Dorsoflexion des Kopfes erschien verstärkt.

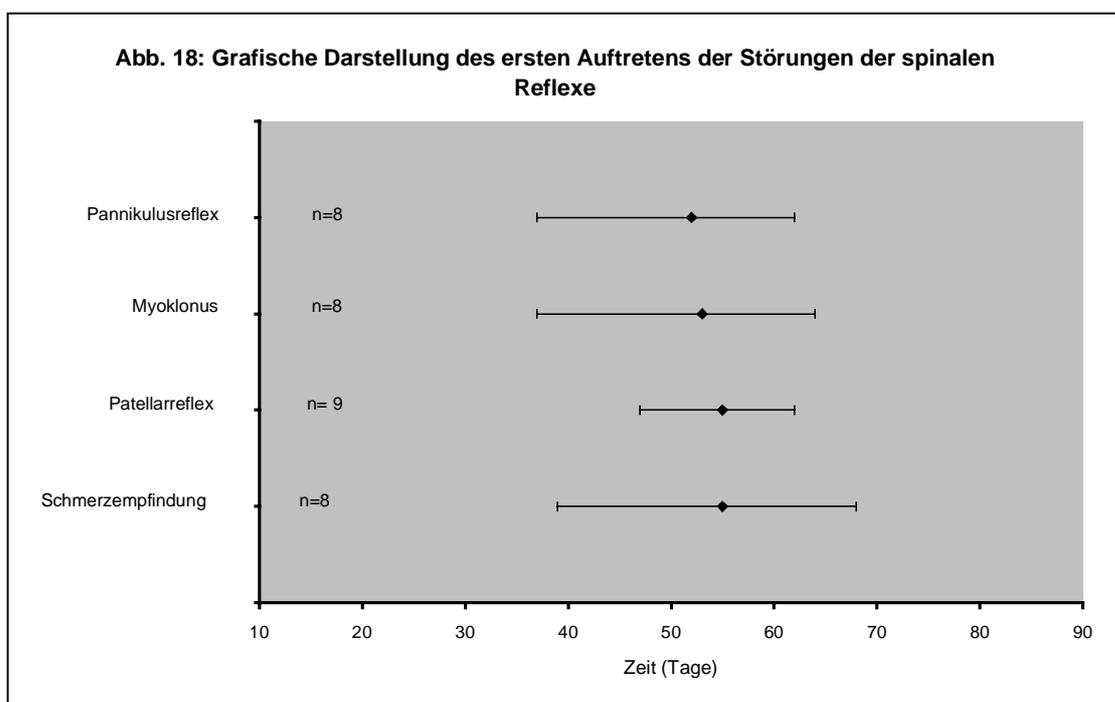


Bei der „Aufsteh-Prüfung“ streckten die Tiere bei der Fixation in Seitenlage die Gliedmaßen steif vom Körper weg und zeigten wiederum eine ausgeprägte Dorsoflexion des Kopfes. Hierbei wurde dem Druck an der Palmar- und Plantarfläche bei starr gestreckter Gliedmaße auch dann nicht nachgegeben, wenn diese in eine andere Richtung gedrängt wurde. Mit zunehmendem Grad der Erkrankung konnte bei Druckausübung auf nur eine Gliedmaße eine Angleichung der übrigen drei Gliedmaßen in Richtung und Haltung beobachtet werden (5069, 5070, 5071, 5072, 5073, 5075, 5076, 5079, 5080). Zusätzlich konnten eine Kontraktur der Gesichtsmuskulatur, ein Nystagmus sowie krampfartig geschlossene Augenlider beobachtet werden. Beim Loslassen nach Fixation waren die Tiere unfähig, Kopf- und Körper im Raum zu orientieren. Der Versuch, sich aus dieser Lage zu befreien, führte teilweise zu ausgedehnten Ruderbewegungen aller vier Gliedmaßen unter zusätzlichem Kopfkreisen. Sobald der Kopf die richtige Orientierung im Raum fand oder die Gliedmaßen einen Widerstand erhielten, stoppte das Tier seine Bewegungen. Ein selbstständiges Aufstehen war zu diesem Zeitpunkt des Versuches nicht mehr möglich. Die „Aufsteh-Prüfung“ wies schon in der Frühphase des Versuches zuverlässig auf erste sichere Auswirkungen der

Vergiftung hin, denn hierbei zeigten auch sonst noch unauffällige Ziegen bereits deutliche Störungen dieser Art.

#### 3.2.2.2.4 Spinale Reflexe

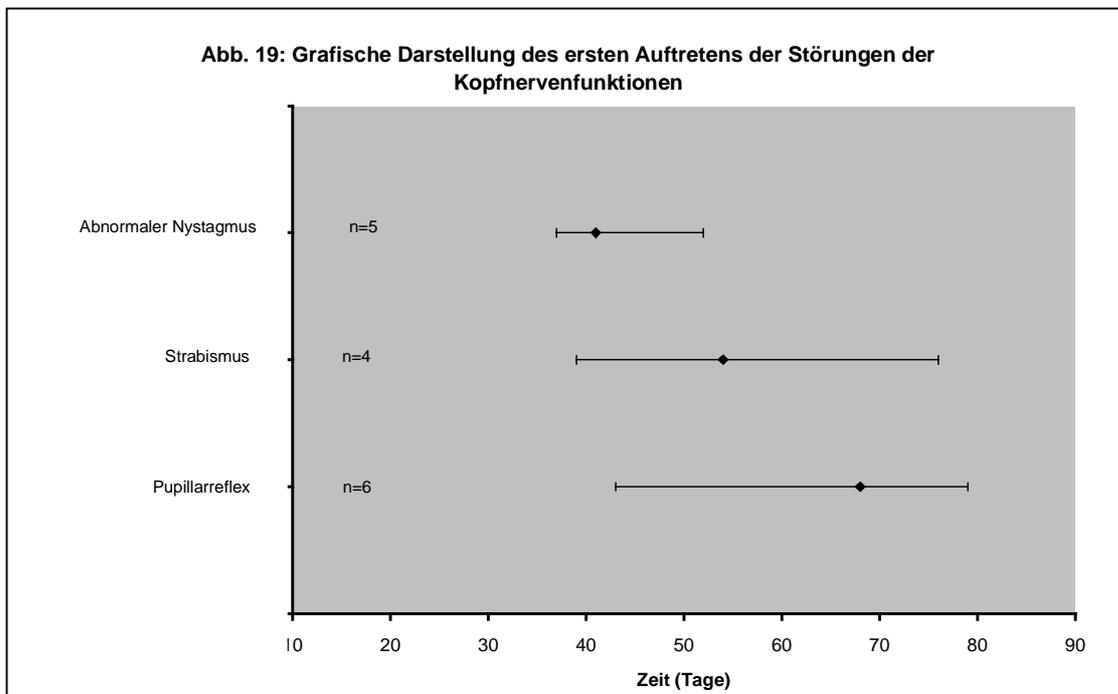
Bei der Mehrzahl der Tiere wurden Störungen der Patellar- und Pannikulusreflexe, in Form von Hypo- und Hyperreflexien, festgestellt, die meist erst in späteren Krankheitsstadien manifest wurden (Abb. 18). Patellar- und Pannikulushyperreflexie wurden während der gesamten Untersuchungszeit festgestellt. Das Schmerzempfinden erschien verzögert. Bei einigen Tieren lag weiterhin ein Myoklonus vor (5069, 5071, 5072, 5074, 5075, 5076, 5079).



#### 3.2.2.2.5 Kopfnervenfunktionen

Die wichtigsten Anomalien der kranialen Nervenfunktionen stellten sich zum einen als abnormer Nystagmus, d. h. schnellere Schwingungen der vertikalen, horizontalen und rotatorischen Augenbewegungen, dar, welche durch Bewegungen des Kopfes in verschiedene Richtungen provoziert werden konnten. Besonders deutlich trat dieser bei der „Aufsteh-Prüfung“ hervor (5069, 5070, 5071, 5072 und 5073). Außerdem wurde ein normaler Nystagmus bei Spontanbewegungen des

Kopfes beobachtet. Der Pupillarreflex war verzögert oder fehlte ganz, letzteres besonders in der Endphase der Erkrankung (5069, 5070, 5071, 5072, 5073, 5079). Seltener wurde ein ventro-medialer Strabismus festgestellt (5069, 5072, 5073, 5075). Auch dieser wurde gewöhnlich erst spät bemerkt (Abb. 19). Auf Geräusche reagierten alle Tiere zunächst überempfindlich, im Endstadium der Erkrankung dagegen wurde gar keine Reaktion mehr gezeigt. Manche Tiere zeigten Schwierigkeiten, Futter aufzunehmen und zu kauen. Außerdem zeigten sie herabhängende Lippen und Augenlider.



Im Endstadium der Erkrankung blieb der Appetit jedoch stets erhalten. Die Tiere zeigten eine Tetraparese, wobei die Mehrzahl nach Aufstellhilfe in sägebockartiger Stellung für kurze Zeit zum Stehen kam. Dabei wurde ein deutlicher Intentionstremor beobachtet. Die Stellreaktion und die Plantar-Palmarflächen-Gegendruckantwort waren deutlich erhöht (Abb 10d), die spinalen Reflexe dagegen markant erniedrigt. Strabismus und abnormer Nystagmus waren weitere typische Symptome im Endstadium der Erkrankung. Das Schmerzempfinden fehlte schließlich ganz.

### **3.2.2.3            Obduktionsbefunde bei spontane und experimenteller Vergiftung**

Sowohl bei den spontan, als auch bei den experimentell durch *Ipomoea fistulosa* erkrankten Tieren wurden lediglich eine hochgradige Abmagerung und eine Anämie festgestellt.

### **3.2.2.4            Histopathologische Befunde bei spontane und experimenteller Vergiftung**

Die wichtigsten histopathologischen Veränderungen bestanden in einer zytoplasmatischen Vakuolisierung in neuronalen und extraneuronalen Geweben. Tabelle 11 zeigt eine Zusammenfassung der betroffenen Organe sowie Zelltyp und Grad der Veränderungen, wie sie sich in der H.E.-Färbung darstellten.

#### **3.2.2.4.1        Veränderungen des Nervensystems**

Die Veränderungen waren im wesentlichen durch eine neuronale Vakuolisierung, axonale Degeneration sowie durch eine Astrogliose gekennzeichnet. Die Tabellen 12 - 14 geben eine Zusammenfassung der wichtigsten betroffenen Gehirngebiete. Im allgemeinen waren die Läsionen sehr uniform und bilateral symmetrisch. Es wurden keine signifikanten Unterschiede der Befunde zwischen den Untersuchungsgruppen festgestellt. Prominente Veränderungen fanden sich vor allem im Kleinhirn, wurden aber ebenso in der Großhirnrinde, im Corpus striatum und Thalamus festgestellt. Die Vakuolisierung lag sowohl im zentralen Nervensystem (ZNS) als auch im autonomen Nervensystem vor. Neuronale Nekrosen wurden insbesondere in der Kleinhirnrinde beobachtet. Axonale Sphäroide fanden sich in ausgeprägter Form im Globus pallidus, in der Substantia nigra, im Cortex cerebelli, in den Nucc. cerebelli, im Nuc. vestibularis lateralis, im Nuc. cuneatus lateralis und im Nuc. olivaris. Im Globus pallidus, im Nuc. lateralis ventralis thalami, in der Substantia nigra, im Cortex cerebelli, in den Nucc. cerebelli und im Nuc. vestibularis lateralis wurde zusätzlich eine deutliche Astrogliose festgestellt.

### 3.2.2.4.1.1 Zytopathologie

#### 3.2.2.4.1.1.1 Neuronen

Allgemein wiesen die Neuronen ein voluminös-schaumiges Zytoplasma mit Bildung zahlreicher kleiner Vakuolen auf (Abb. 20a). Die Nissl-Substanz erschien vermindert und feingranulär. Bei Tieren, die mehr als 50 Versuchstage überlebten, zeigten Neuronen, insbesondere Purkinjezellen, häufig eine aufgelöste Nissl-Substanz, eine Eosinophilie des Zytoplasmas und einen randständigen Zellkern im Sinne einer Chromatolyse (Abb. 20b). Bei einem Teil dieser Neuronen konnte kein Zellkern mehr nachgewiesen werden. Vereinzelt zeigten Purkinjezellen Karyorrhexis und Pyknose (Abb. 20c). In verschiedenen Bulbus- und Kleinhirnkerngebieten fanden sich einzelne Neuronen mit starker Eosinophilie des Perikaryon sowie Karyolyse. Im Endstadium der Erkrankung wurde ein Zellverlust insbesondere von Purkinjezellen des Vermis cerebelli beobachtet (Abb. 21a). Axonale Schädigungen waren durch Sphäroidbildung mit segmentaler Verdickung, Eosinophilie und feingranuliertem Axoplasma charakterisiert. Bei der immunhistochemischen Untersuchung wurde eine segmentale Ansammlung von Neurofilament (NF) in Axonen in allen Ebenen des Gehirnes nachgewiesen. Dabei zeigten die proximalen Anteile der Axone von Purkinjezellen der Kleinhirnrinde eine besonders ausgeprägte positive Reaktion für NF. In Längsschnitten zeigten diese häufig das Bild sogenannter "Torpedos" (Abb. 22a, b, c). Tiere, die mehr als 60 Versuchstage überlebten, wiesen in Kleinhirnkerngebieten lediglich eine schwach positive oder vollständig fehlende NF-Reaktion in den distalen Anteilen der Axone auf. Dagegen zeigten viele chromatolytische Purkinjezellen eine positive NF-Reaktion. In der Kleinhirnrinde wurde eine starke Verminderung der Korbzellaxone und ihrer terminalen kollateralen Ramifikationen sowie von Axonen der Granulosazellschicht festgestellt (Abb. 23a). Der GAD-Nachweis bei der Ziege 5080 ergab eine mittelgradige positive Reaktion der Stern-, Korb-, Golgi- und Purkinjezellen. In den Nucc. cerebelli war in axonalen Sphäroiden eine hochgradige positive Reaktion festzustellen (Abb. 24a). Dagegen zeigten die Ziegen 5070, 5073 und 5123 eine geringgradige positive Reaktion bei den zuvor genannten Zellen sowie in den Nucc. cerebelli. Die axo-

somatischen synaptischen Kontakte im Cortex und in den Nucc. cerebelli erschienen deutlich reduziert (Abb. 23b, 24b). In der Kleinhirnrinde wurde eine starke Verminderung der Zellen sowie der Korbzellaxone festgestellt.

#### **3.2.2.4.1.1.2 Astrozyten**

Bei Tieren, die länger als 50 Tage nach Beginn der Fütterung überlebten, bildete sich eine mehr oder weniger deutliche Astroglieose aus, wie sie besonders mit der GFAP Reaktion gezeigt werden kann (Abb. 25a, c). Sie war in denjenigen Gebieten, in denen sich die ausgeprägtesten Perikaryon- und Axondegenerationen befanden, besonders deutlich. Die Astrozyten wiesen in der H.E.-Färbung ein verstärkt eosinophiles und gleichzeitig vermehrtes Zytoplasma auf. Die Zellkerne waren randständig, groß und eingebuchtet. Besonders in den Thalamus-Kerngebieten der beiden Ziegen 5072 und 5075 wurden Karyorrhesis und Pyknose in Astrozyten festgestellt. Die Bergmann-Glia zeichnete sich durch eine deutliche Proliferation sowie durch eine stark GFAP-positive zytoplasmatische Reaktion aus. Dabei bildeten ihre Fortsätze breite und dichte, bis zur Glia limitans reichende Bänder (Abb. 25c).

#### **3.2.2.4.1.1.3 Oligodendrozyten**

Die Oligodendrozyten zeigten in der H.E.-Färbung keine histopathologischen Veränderungen. Die Luxol-Fast-Blue-Färbung ergab lediglich eine Verminderung der myelinisierten Axone im Stratum granulosum des Kleinhirnes.

#### **3.2.2.4.1.2 Topographie und Kinetik der ZNS-Veränderungen**

In den Tabellen 15-17 sind die histopathologischen Veränderungen in der H.E.-Färbung detailliert aufgelistet. Die topographische Verteilung der zytoplasmatischen neuronalen Vakuolisierung und axonalen Sphäroide im Gehirn und ihre Kinetik (20, 30 und >40 Versuchstage) sind in den Abbildungen 39-56 zusammenfassend dargestellt. Im folgenden werden die Veränderungen im Detail beschrieben.

### 3.2.2.4.1.2.1 Spontane Vergiftung

Die wichtigsten histopathologischen Veränderungen bei den drei Ziegen wurden im Kleinhirn und hier besonders im Vermis festgestellt. Hochgradige Vakuolisierung, Verlust von Purkinjezellen, Sphäroidbildung im Stratum granulosum, in der Substantia alba und in den Nucc. cerebelli, Vakuolisierung bzw. Status spongiosus in der Substantia alba sowie eine hochgradige Astrogliose waren hier besonders prominent. Im Folgenden werden die individuellen Veränderungen im einzelnen vorgestellt.

**Ziege 5113.** Hier wurden lediglich sehr geringgradige Veränderungen, wie eine sehr gering- bis geringgradige Vakuolisierung in den Purkinjezellen des Vermis festgestellt. Im Nuc. fastigii und in den Nucc. interpositi cerebelli lag eine mittelgradige, in der Substantia nigra, im Cortex cerebelli, im Nuc. lateralis cerebelli, im Nuc. vestibularis lateralis, im Nuc. gracilis und im Nuc. olivaris accessorii dorsalis eine geringgradige Sphäroidbildung vor. Ein Neuronenverlust und eine Astrogliose waren im Nuc. lentiformis, im Nuc. lateralis ventralis thalami, in der Substantia nigra und in den Nucc. cerebelli nachweisbar. Zusätzlich wurde ein Status spongiosus in der Substantia alba beobachtet, welcher besonders ausgeprägt in den Nucc. cerebelli, im Nuc. vestibularis lateralis, im Pedunculus cerebellaris rostralis, im Fasciculus longitudinalis medialis und im Fasciculus tegmenti erschien. Eine geringgradige Ausprägung dieser Veränderung fand sich im Pedunculus cerebellaris caudalis, in der Formatio reticularis, in der Substantia nigra und im Globus pallidus.

**Ziege 5114.** Nur bei diesem Tier konnte eine neuronale Vakuolisierung in verschiedenen Arealen des Gehirnes festgestellt werden. Im Telencephalon wurde im Cortex cerebri eine mittelgradige, im Corpus striatum dagegen eine eher gering- bis mittelgradige Vakuolisierung beobachtet. Im Rhinencephalon lag eine sehr geringgradige neuronale Vakuolisierung im Corpus amygdaloideum vor. Im Diencephalon wurden gleichartige Veränderungen in gering- bis hochgradiger Ausprägung in den Nucc. thalami, weiterhin geringgradig in der Zona incerta sowie mittelgradig in den Nucc. subthalamici festgestellt. Im Mesencephalon fand sich eine geringgradige neuronale Vakuolisierung im Nuc. ruber und in der Formatio

reticularis. Im Metencephalon trat eine sehr gering- bis mittelgradige neuronale Vakuolisierung in Purkinje- und Golgizellen im Vermis auf. Im Hemispherium cerebelli lag eine sehr gering- bis geringgradige Purkinjezellvakuolisierung vor. Der Nuc. fastigii und die Nucc. interpositi cerebelli zeigten eine geringgradige Vakuolisierung. Im Myelencephalon fand sich die mittelgradige neuronale Vakuolisierung insbesondere in den Nucc. olivares accessorii dorsalis et ventralis, dagegen eine eher geringgradige in den Nuc. tr. spinalis nervi trigemini, Nuc. motorius n. trigemini, Nuc. motorius n. facialis und in der Pars cervicalis medulla spinalis sowie sehr geringgradig in der Formatio reticularis. Eine Sphäroidbildung in geringem Maße wurde in folgenden Arealen festgestellt: Substantia nigra, Vermis cerebelli, Nuc. fastigii und Nucc. interpositi cerebelli. Ganz vereinzelte Sphäroiden fanden sich im Nuc. vestibularis lateralis und im Nuc. cuneatus lateralis und mittelgradige im Nuc. olivaris accessorius dorsalis.

**Ziege 5123.** Bei diesem Tier wurde lediglich im Cerebellum eine neuronale Vakuolisierung von Purkinje- und Golgizellen festgestellt. Besonders prominente Läsionen fanden sich im Vermis, dagegen waren die Veränderungen in den Kleinhirnhemisphären eher sehr geringgradig bis geringgradig. Im Stratum moleculare, in der Purkinjezellschicht und im Stratum granulosum wurde ein hochgradiger Zellverlust von Perikarya beobachtet (Abb. 21a). Das Stratum moleculare wies in der H.E.-Färbung eine Auflockerung auf. Im Vermis cerebelli bestand eine gering- bis hochgradige, in den Kleinhirnhemisphären dagegen eine geringgradige Sphäroidbildung. Der Nuc. lateralis cerebelli, die Nucc. interpositi cerebelli und der Nuc. vestibularis lateralis zeichneten sich durch eine eher geringgradige und der Nuc. fastigii durch eine sehr geringgradige Sphäroidbildung aus. Bei der immunhistochemischen Untersuchung auf Neurofilament wurde ein deutlicher diffuser Verlust von Axonen und Dendriten festgestellt. Im Stratum granulare und der Substantia alba fanden sich Sphäroide und eine Verminderung der NF-Expression der Axone (Abb. 23a). Weiterhin waren eine Astroglie und eine hochgradige Hypertrophie der Bergmann-Gliafasern in der GFAP-Färbung zu beobachten, zusätzlich wiesen die Bergmann-Gliazellen eine deutliche Proliferation sowie eine zytoplasmatische GFAP-Reaktion auf (Abb. 25c). Der GAD-Nachweis

ergab eine geringgradige positive Reaktion der Stern-, Korb-, Golgi- und Purkinjezellen sowie der Nucc. cerebelli. Die axo-somatischen synaptischen Kontakte im Cortex und in den Nucc. cerebelli erschienen deutlich reduziert (Abb. 23b). In der Kleinhirnrinde wurde ein starker Verlust der zuvor genannten Zellen festgestellt.

#### 3.2.2.4.1.2.2 Experimentelle Vergiftung

Die Ziege 5082, die am **20. Versuchstag** euthanasiert wurde, zeigte als wichtigste Läsion eine neuronale Vakuolisierung. Diese war in den Nucc. thalami des Diencephalon sehr gering- bis mittelgradig, in den Nucc. subthalamici geringgradig ausgeprägt. Im Metencephalon wurde eine geringgradige neuronale Vakuolisierung der Purkinjezellen besonders des Vermis beobachtet. Eine sehr geringgradige Sphäroidbildung fand sich im Nuc. fastigii und in den Nucc. interpositi cerebelli.

Ziege 5081 wurde am **30. Versuchstag** euthanasiert, und auch hier war die neuronale Vakuolisierung die auffälligste Veränderung. Im Telencephalon fand sie sich sehr geringgradig und multifokal insbesondere im Cortex cerebri und geringgradig im Claustrum. Im Diencephalon variierte dieser Läsionstyp von gering- bis mittelgradig in den Nucc. thalami, und war in den Nucc. subthalamici sehr geringgradig ausgeprägt. Im Mesencephalon fanden sich ganz vereinzelt vakuolisierte Neuronen in den Colliculi rostrales und caudales und in der Formatio reticularis. Gleichartige Veränderungen traten sehr geringgradig in der Formatio reticularis und den Nucc. cerebelli sowie geringgradig in den Nucc. pontis und Nucc. dorsales corporis trapezoidei des Metencephalon auf. Im Kleinhirn variierte die Vakuolisierung von sehr gering- bis mittelgradig in Purkinje- und Golgizellen des Vermis, während sie in den Hemisphären wiederum sehr gering- bis geringgradig ausgeprägt war. Eine geringgradige Sphäroidbildung fand sich auch in den Nucc. interpositi cerebelli.

**Ab dem 40. Versuchstag** waren die zerebralen Läsionen durch eine disseminierte neuronale Vakuolisierung charakterisiert. Multifokale Chromatolysen und neuronale Nekrosen in Metencephalon und Myelencephalon sowie eine disseminierte axonale Degeneration und eine diffuse Astroglieose waren weitere wichtige Befunde bei allen

Tieren (5069, 5070, 5071, 5072, 5073, 5074, 5075, 5076, 5079, 1580). Diese Läsionen waren individuell variabel in Ausprägung, Verteilung, Lokalisation und betroffenem Zelltyp.

Im Telencephalon wiesen alle Tiere eine neuronale Vakuolisierung auf. Im Cortex cerebri variierte diese Veränderung von sehr gering- bis mittelgradig, im Corpus striatum dagegen von sehr gering- bis hochgradig. Bei sechs von 10 Ziegen wurde eine sehr gering- bis mittelgradige Sphäroidbildung im Globus pallidus beobachtet. Im Corpus striatum, und dort besonders in Putamen und Globus pallidus, lag bei sieben Tieren eine sehr gering- bis hochgradige Astroglie vor.

Im Rhinencephalon traten eine gering- bis hochgradige neuronale Vakuolisierung im Hippocampus sowie eine sehr gering- bis mittelgradige im Gyrus parahippocampalis und gering- bis mittelgradige im Corpus amygdaloideum bei acht Ziegen auf. Eine geringgradige Astroglie wurde bei dem Tier 5069 im Hippocampus festgestellt.

Im Diencephalon, insbesondere im Thalamus, lagen bei allen Tieren hochgradige Läsionen vor, welche durch neuronale Vakuolisierung und Astroglie charakterisiert waren. Dabei waren die Nucc. mediales und laterales besonders betroffen. Die neuronale Vakuolisierung variierte in ihrer Ausprägung von mittel- bis hochgradig. Bei 7 Ziegen fiel der Verlust von Zellkernen in hochgradig vakuolisierten Neuronen, insbesondere im Nuc. lateralis ventralis, auf. Bei allen Tieren wurde eine gering- bis hochgradige Astroglie festgestellt. Zwei Ziegen zeigten ein hochgradiges Astrozytenödem (vgl. 3.2.2.4.1.1.2). Lediglich das Tier 5070 wies in den Nucc. medialis und lateralis thalami eine Sphäroidbildung auf. In den Nucc. geniculati konnte eine gering- bis mittelgradige Vakuolisierung bei acht Tieren, weiterhin eine sehr geringgradige Sphäroidbildung bei zwei Tieren und eine gering- bis mittelgradige Astroglie bei drei Tieren beobachtet werden. Im Subthalamus bzw. der Zona incerta, in den Nucc. subthalamici und im Nuc. endopeduncularis fand sich bei acht Ziegen eine gering- bis mittelgradige neuronale Vakuolisierung. Eine sehr gering- bis geringgradige Sphäroidbildung war hier bei zwei Tieren nachweisbar. Im Hypothalamus konnte eine sehr gering- bis

geringgradige neuronale Vakuolisierung bei drei Ziegen sowie eine geringgradige Astrogliose bei einem Tier (5069) beobachtet werden.

Im Mesencephalon fanden sich in den meisten Kerngebieten bei neun Tieren eine sehr gering- bis mittelgradige neuronale Vakuolisierung und bei allen Tieren eine sehr gering- bis mittelgradige Sphäroidbildung sowie eine diffuse Astrogliose. In der Substantia nigra von neun Ziegen wurde eine sehr gering- bis mittelgradige Sphäroidbildung und eine gering- bis hochgradige Astrogliose festgestellt. In den Gehirnen von Tieren, die länger als 70 Versuchstage überlebten, zeigte sich ein Verlust von Neuronen in der Pars reticularis der Substantia nigra. Sphäroidbildungen fanden sich bei einem Tier geringgradig im Nuc. marginalis pedunculi cerebellaris rostralis und sehr geringgradig im Nuc. lemnisci lateralis sowie sehr gering- bis mittelgradig bei vier Tieren in den Colliculi craniales und caudales. Vier weitere Ziegen wiesen hier eine sehr gering- bis mittelgradige Astrogliose auf.

Im Metencephalon traten die markantesten Läsionen im Cortex cerebelli, in den Nucc. cerebelli, im Nuc. dorsalis corporis trapezoidei und in den Nucc. pontis auf. Hochgradige Veränderungen lagen im Kleinhirnwurm, gering- bis mittelgradige in den Kleinhirnhemisphären und im Lobus flocculonodularis vor. Eine neuronale Vakuolisierung fand sich in allen Zellschichten des Kleinhirns, war jedoch in den Purkinjezellen besonders ausgeprägt (Abb. 20a). Das Neuropil des Stratum moleculare erschien aufgelockert, zusätzlich wurden Sphäroide im Stratum granulare und in der Substantia alba beobachtet. Weiterhin lag eine Proliferation der Bergmann-Gliazellen vor (Tab. 17), wobei Lingula, Lobulus centralis, Culmen, Declive, Folium vermis, Tuber, Pyramis und Uvula bei allen Tieren betroffen waren. Chromatolyse und Nekrose, insbesondere der Purkinjezellen (Abb. 20b, c) fanden sich ebenfalls bei allen Tieren. Ein Verlust von Purkinjezellen wurde dagegen bei sieben Tieren festgestellt. Im Stratum granulare und in der Substantia alba lag bei allen Tieren, die den 50. Versuchstag überlebten, eine sehr gering- bis hochgradige Sphäroidbildung in Form sogenannter "Torpedos" vor (Abb. 22a, b). Mit Ausnahme der Ziege 5069 zeigten alle Tiere eine sehr gering- bis hochgradige neuronale Vakuolisierung insbesondere der Purkinjezellen in den Kleinhirnhemisphären und

im Lobus flocculonodularis. In erstgenannter Lokalisation wurden Sphäroide in sehr gering- bis geringgradiger Ausprägung bei neun Tieren festgestellt. Bei allen Tieren waren die Befunde in den Nucc. cerebelli durch sehr gering- bis hochgradige neuronale Vakuolisierung und Sphäroidbildung sowie durch eine mittel- bis hochgradige Astroglieose geprägt. Im Nuc. fastigii und in den Nucc. interpositi cerebelli konnte eine gering- bis hochgradige, im Nuc. lateralis cerebelli eine eher sehr gering- bis mittelgradige Sphäroidbildung neben Einzelzellnekrosen großer und kleiner Neuronen bei allen Tieren beobachtet werden. In dem Pons fanden sich eine sehr gering- bis mittelgradige neuronale Vakuolisierung und Astroglieose bei acht Tieren. Die am deutlichsten betroffenen Kerngebiete waren der Nuc. dorsalis corporis trapezoidei, die Nucc. pontis und die Formatio reticularis. In den Nucc. pontis wurden bei zwei Tieren Sphäroide beobachtet. Der GAD-Nachweis bei der Ziege 5080 ergab eine mittelgradige positive Reaktion der Stern-, Korb-, Golgi- und Purkinjezellen. In den Nucc. cerebelli war in axonalen Sphäroiden eine hochgradige positive Reaktion festzustellen (Abb. 24a). Dagegen zeigten die Ziegen 5070 und 5073 eine geringgradige positive Reaktion bei den zuvor genannten Zellen sowie in den Nucc. cerebelli (Abb. 24b). Die axo-somatischen synaptischen Kontakte im Cortex und in den Nucc. cerebelli erschienen deutlich reduziert. In der Kleinhirnrinde wurde eine starke Verminderung der Zellen sowie der Korbzellaxone festgestellt.

Auch im Myelencephalon fielen insbesondere eine neuronale Vakuolisierung und Sphäroidbildung auf, wobei die Ausprägung der Läsionen in den unterschiedlichen Kerngebieten von sehr gering- bis hochgradig variierte. Manche Kerngebiete waren völlig unverändert. Eine neuronale Vakuolisierung in der Medulla oblongata wurde insbesondere in folgenden Kerngebieten beobachtet: mittel- bis hochgradig in den Nucc. olivaris accessorius dorsalis et ventralis bei neun Tieren; sehr gering- bis mittelgradig im Nuc. vestibularis lateralis bei acht Tieren; im Nuc. tr. spinalis n. trigemini und motorius n. trigemini bei sieben Tieren; im Nuc. cuneatus lateralis bei sechs Tieren; im Nuc. cuneatus medialis bei vier Tieren und in der Formatio reticularis bei sieben Tieren; sehr gering- bis geringgradig im Nuc. vestibularis medialis bei fünf Tieren; im Nuc. vestibularis caudalis bei vier Tieren; im Nuc.

funiculi lateralis bei sechs Tieren und im Nuc. gracilis bei vier Tieren. Eine Sphäroidbildung trat in folgenden Kerngebieten der Medulla oblongata auf: sehr gering- bis mittelgradig im Nuc. vestibularis lateralis bei allen Tieren; im Nuc. gracilis bei drei Tieren; im Nuc. cuneatus medialis bei fünf Tieren; im Nuc. cuneatus lateralis bei acht Tieren; im Nuc. olivaris accessorius dorsalis bei fünf Tieren und im Nuc. olivaris accessorius ventralis bei vier Tieren; sehr gering- bis geringgradig im Nuc. vestibularis medialis und caudalis bei drei Tieren. Eine Astrogliose wurde bei acht Tieren in der Medulla oblongata festgestellt, welche besonders bei denjenigen Tieren ausgeprägt war, die mehr als 70 Versuchstage überlebten. Die Medulla spinalis wies sehr gering- bis mittelgradige neuronale Vakuolisierung und Sphäroide auf, wobei Grad und Verteilung von Segment zu Segment variierten.

Bei allen Tieren, die den 50. Versuchstag überlebten, trat eine in den spinalen und autonomen Ganglien und im Plexus mesentericus sehr gering- bis mittelgradige neuronale Vakuolisierung auf. In den peripheren Nerven war eine Vakuolisierung in der H.E.-Färbung nicht nachweisbar (vgl. 3.2.2.4.1).

#### 3.2.2.4.2 Veränderungen in anderen Organen

##### 3.2.2.4.2.1 Spontane Vergiftung

Zytoplasmatische Vakuolen wurden lediglich in Azinuszellen des **Pankreas** in geringgradiger Ausprägung bei Ziege 5113 und in hochgradiger bei Tier 5114 beobachtet.

Im Folgenden sind weitere Veränderungen in anderen Organen aufgeführt:

In der **Zunge** eine chronische herdförmige eitrige Glossitis (5113, 5114); Hyper- und Parakeratose des **Vormagens**; im **Labmagen** und **Darm** eine nichteitrig multifokale Abomasoenteritis (5113, 5114, 5123) und eine durch *Eimeria* sp. verursachte Kokzidiose in **Ileum** und **Cäcum** (5113); in der **Leber** feingranuliertes Zytoplasma der Hepatozyten, Zeroidablagerungen in Makrophagen und Kupfferzellen (5113) und eine chronische proliferative nichteitrig periportale Hepatitis (5123); in der **Schilddrüse** eine follikuläre zystische Hyperplasie und eine chronische herdförmige nichteitrig interstitielle Thyreoiditis; Zystenbildung in der

**Adenohypophyse** (5113, 5114); in den **Nebennieren** eine herdförmige nichteitrigige Entzündung (5113); im **Herz** eine herdförmige nichteitrigige Myokarditis und Hypertrophie der Coronararterienwände (5113), Sarkozystiszysten (5114) und Lipofuszinose (5113) im Myokard; in der **Niere** Dilatation aller renalen Tubuli (5113, 5114, 5123); gemischte Hyperplasie (5114, 5123), eine herdförmige eitrigige Splenitis (5123) und Hämosiderose der **Milz** (5114); in den **Lymphknoten** eine Lymphadenitis simplex, herdförmige eitrigige Lymphadenitis und multifokale Lipofuszinpigmentablagerungen in nahezu allen Makrophagen im Sinus (5113, 5114, 5123); Atrophie der **Ovarien** (5113) und der **Hoden** (5123) und in der **Skelettmuskulatur** aller Fälle eine multifokale chronisch-proliferative Myositis mit Sarkozystisstadien.

#### 3.2.2.4.2 Experimentelle Vergiftung

Das **Pankreas** aller Tiere zeigte eine gering- bis hochgradige diffuse zytoplasmatische Azinusepithelvakuolisierung und eine Verminderung der Zymogengranula (Abb. 26a). Bei vier Ziegen (5070, 5071, 5074, 5075) wurden weiterhin in einzelnen Zellen Pyknose und Karyorrhesis festgestellt.

Bei allen Fällen fand sich eine diffuse (5069, 5074, 5079, 5081, 5082) oder herdförmige (5070, 5071, 5073, 5076, 5080) sehr gering- bis hochgradige Vakuolisierung der Follikelepitheleien der **Schilddrüse** (Abb. 26b). Das Schilddrüsenkolloid wies desquamierte, vakuolisierte Zellen mit pyknotischen Zellkernen auf. Bei vier Tieren (5074, 5079, 5081, 5082) wurden eine fokale interstitielle Fibrose sowie lymphohistiozytäre Infiltrate in der Schilddrüse festgestellt.

In der **Leber** lag allgemein eine gering- bis hochgradige Schwellung der Hepatozyten mit granulärem Zytoplasma vor. Vakuolen waren nur bei einigen Ziegen deutlich nachweisbar (Abb. 26c). Die Kupferzellen wiesen eine mittel- bis hochgradige Hypertrophie mit vakuolisiertem Zytoplasma auf (5070, 5071, 5072, 5073, 5074, 5075, 5079). Weiterhin fanden sich eine diskrete Gallengangsproliferation und eine portale Fibrose mit geringgradigen, gemischtzelligen Infiltraten, eine Hämosiderose der Kupferzellen und einzelne

Gallenzylinder in den Gallenkapillaren. Vier Tiere wiesen vereinzelte Hepatozytennekrosen auf (5070, 5071, 5072, 5073).

Die Epithelien der Tubuli contorti der **Nieren** zeigten bei allen Tieren ein schaumiges Zytoplasma in gering- bis hochgradiger Ausprägung und eine Dilatation der Sammelrohre. Eine eindeutige Vakuolenbildung war mit histologischen Färbemethoden jedoch nicht nachweisbar.

Sechs Tiere (5069, 5070, 5071, 5072, 5073, 5074) zeigten in der **Nebennierenrinde** geschwollene Zellen mit feiner Vakuolisierung des Zytoplasmas und bei 3 Tieren wurde eine erhöhte Mitoserate festgestellt (5069, 5074, 5079).

Ein sehr gering- bis geringgradiger Gehalt an schaumigen Makrophagen in den Sinus der **Milz** wurde bei drei Tieren beobachtet (5070, 5074, 5079, 5080). Bei zwei Tieren (5075, 5081) fand sich eine Hämosiderose.

Im Sinus des **Lymphknotens** aller Ziegen lag eine sehr gering- bis mittelgradige Ansammlung schaumiger oder fein vakuolisierter Makrophagen vor (Abb. 26d). Dieser Befund wurde insbesondere in den Mandibular- und Buglymphknoten erhoben. In den Lymphknoten von 5 Tieren wurde eine Hämosiderose festgestellt (5072, 5074, 5076, 5080, 5082).

Das **Knochenmark** zweier Tiere (5070, 5071) wies einen hochgradigen Schwund aller Zellpopulationen auf.

In den **Gonaden** vierer männlicher Tiere (5070, 5072, 5073, 5076) fand sich eine hochgradige Verminderung der zellulären Elemente und in Spermatogonien, Spermatozyten und Spermatiden lag ein schaumiges Zytoplasma vor. Die Tubuli seminiferi waren bei drei Tieren kollabiert (5070, 5072, 5073). Lediglich bei einer Ziege (5076) konnten Spermatiden in der akrosomischen und Reifephase im Nebenhoden nachgewiesen werden.

In **Pansen**, **Netz-** und **Blättermagen** aller Tiere fand sich eine multifokale gemischtzellige leukozytäre Infiltration im Mukosaepithel. In **Labmagen** und **Dünndarm** wurde eine sehr geringgradige *Eimeria* sp.-Infektion festgestellt (5069, 5070, 5071, 5076, 5079). Bei einer Ziege (5074) konnte Strongylyden-Befall nachgewiesen werden.

In der **Skelettmuskulatur** aller Tiere wurden Sarkozystisstadien beobachtet.

### 3.2.2.5 Lektin histochemie

Die Ergebnisse der lektin histochemischen Untersuchungen sind in Tabelle 18 zusammenfassend dargestellt.

#### 3.2.2.5.1 Experimentelle Vergiftung

Wie bereits beschrieben, wurde im **ZNS** eine Vakuolisierung in Neuronen, Gliazellen und in perivaskulären Zellen festgestellt. Die Vakuolenmembran konnte allgemein mittels der Lektine Con-A, LCA, WGA und S-WGA markiert werden (Abb. 27a, b, c, d). Die Ausprägung der Membranmarkierung variierte je nach verwendeter Lektinart. Eine hochgradige Vakuolisierung wurde in Perikarya des Klein- und Großhirnkortex, im Corpus striatum und in den pontinen und zerebellaren Kerngebieten nachgewiesen (Abb. 27, 28a). Die Vakuolen im Perikaryon von Groß- und Kleinhirnrinde waren von mittlerem bis großem Umfang. Dagegen zeigten die Vakuolen in Corpus striatum, Pons und Kleinhirnkerngebieten eine eher geringe bis mittlere Größe. In Astro- und Oligodendrozyten fanden sich überwiegend kleine, optisch leere Vakuolen. Diese konnten ebenfalls mittels LCA, WGA und S-WGA markiert werden. Im Neuropil wurde eine disseminierte geringgradige Vakuolisierung beobachtet. Im Kleinhirn lag eine geringgradige positive RCA-Reaktion der Bergmann-Glia vor. Diese Zellen wiesen kleine Vakuolen auf, die mit LCA und Con-A markiert werden konnten. In den Kleinhirnkerngebieten, in denen eine hochgradige Gliazellproliferation vorlag, trat zusätzlich eine stark positive RCA- und mittelgradige BS-I-Reaktion dieser Zellen auf. Diese möglicherweise Mikroglia- oder perivaskulären Zellen zeigten kürzere, voluminöse Fortsätze mit unterschiedlich großen Vakuolen, welche vorwiegend um Neuronen, Sphäroide und Kapillaren gruppiert waren. Typisch ramifizierte der Mikroglia ähnliche Zellen wurden seltener und lediglich in der Granulosazellschicht des Kleinhirnes beobachtet. Die perivaskulären Zellen waren mit fünf Lektinen (Con-A, LCA, WGA, S-WGA, PNA und RCA) zu markieren.

Im **peripheren Nervensystem** wurde eine Vakuolisierung der Ganglien- und Schwannzellen beobachtet. Die Ganglienzellen enthielten kleinere Con-A- und

WGA-positive Vakuolen (Abb. 28b). Dagegen wiesen die Schwanzzellen mittelgroße Con-A-, WGA- und S-WGA-positive Vakuolen auf (Abb. 28c).

Im **Pankreas** zeigten die Azinuszellen einen hohen Gehalt großer Vakuolen, welche ausgeprägt durch Con-A und WGA, und geringgradig durch LCA darstellbar waren (Abb. 28d).

In der **Schilddrüse** markierten Con-A und WGA sowohl die Vakuolenmembran als auch das Zytoplasma. Mit keinem der Lektine gelang eine selektive, ausschließliche Markierung der Vakuolenmembran (Abb. 28e).

In der **Leber** fanden sich große Vakuolen in den Hepatozyten, die mittelgradig mit WGA und sehr geringgradig mittels Con-A und LCA darstellbar waren. Der hochgradige Gehalt mittelgroßer Vakuolen in den Kupfferzellen ließ sich ausgeprägt durch Con-A, WGA und RCA sowie geringgradig mit LCA markieren.

Die **Nieren** zeigten eine, in der H.E.-Färbung nicht erkennbare geringgradige zytoplasmatische Vakuolisierung der Tubulusepithelzellen, insbesondere in denen der Sammelrohre. Die kleinen bis mittelgroßen Vakuolen ließen sich stark mit Con-A und WGA, die mittelgradigen mit PNA, und die geringgradigen mit S-WGA markieren.

In den **Lymphknoten** fand sich eine geringgradige Vakuolisierung der Lymphblasten sowie eine mittelgradige Vakuolisierung der Makrophagen. Die Vakuolenmembran beider Zelltypen konnte mittels Con-A, WGA und RCA dargestellt werden (Abb. 28f)

Im **Herz** wies das Endomysium der Myozyten einen geringgradigen Gehalt an mittelgroßen Vakuolen auf, welche Con-A- und WGA-positiv waren.

### 3.2.2.5.2 Spontane Vergiftung

Eine Vakuolisierung wurde in Neuronen sowie in pankreatischen Azinuszellen beobachtet. Im ZNS konnte die neuronale Vakuolisierung mittels der Lektine Con-A, LCA, WGA und S-WGA dargestellt werden, während die Azinuszellen des Pankreas Con-A- und WGA-positiv waren.

### 3.2.2.6 Transmissionselektronenmikroskopie

Bei der ultrastrukturellen Untersuchung verschiedener Organe wurde eine mehr oder weniger ausgeprägte Vakuolisierung festgestellt. Im allgemeinen wiesen die betroffenen Zellen multiple intrazytoplasmatische Vakuolen mit einer Größe von 0,3 bis 3,3  $\mu\text{m}$  auf. Die Vakuolen waren von einer einschichtigen Membran mit einer durchschnittlichen Stärke von 20 nm begrenzt (Abb. 29a Inset). Der Großteil der Vakuolen wies im Inneren einen optisch leeren Raum auf. In einzelnen Vakuolen fanden sich jedoch Membranfragmente, Vesikel, granulär-retikulöse oder dichte, amorphe Substanzen, opake Globula oder osmiophiles Material. In endo- und exokrinen Drüsenzellen lag eine Verminderung der sekretorischen Granula in Anzahl und Reifung vor. Im Pankreas konnten Einzelzellnekrosen der Azinuszellen beobachtet werden (Abb. 30).

Endothelzellen, Fibroblasten und Histozyten wiesen ebenfalls zytoplasmatische Vakuolen in unterschiedlichen Mengen auf (Abb. 31).

#### 3.2.2.6.1 Zentralnervensystem

Die ultrastrukturellen Veränderungen waren durch eine neuronale Vakuolisierung, Auflösung der Nissl-Substanz, axonale Degeneration, Vakuolisierung und Ödem von Astrozyten, Vakuolisierung der Oligodendrozyten, Endothelzellen und perivaskulären Zellen gekennzeichnet.

##### 3.2.2.6.1.1 Neuronen

In der Rinde des Vermis cerebellaris wiesen Purkinje-, Korb- und Golgizellen eine hochgradige, Sternzellen eine gering- bis mittelgradige und Granulosazellen selten eine Vakuolisierung auf (Abb. 32, 37a, 38a, b). Neuronen der Großhirnrinde zeigten eine variable Vakuolisierung. Eine detaillierte Untersuchung aller Schichten wurde nicht vorgenommen. Die Größe der Vakuolen in den verschiedenen Zelltypen lag zwischen 0,12 und 1,7  $\mu\text{m}$ . Allgemein konnte eine Auflösung der Nissl-Substanz beobachtet werden. Ribosomen waren entweder aggregiert oder vom rauhen endoplasmatischen Retikulum (rER) gelöst. Durch ausgeprägte Vakuolenbildung

der Purkinjezellen erschien das rER inklusive der Lamellenkörper deutlich komprimiert. Im Zytoplasma aller Neuronentypen konnten dichte und vesikuläre Körperchen, Myelinfiguren sowie opake- und osmiophile Granula (Residualkörper) festgestellt werden. Die axonalen Veränderungen waren durch eine Sphäroidbildung charakterisiert, welche sich durch segmentale Auftreibungen mit Ansammlung von dichten Körperchen, Mitochondrien, Mikrotubuli und Neurofilamenten manifestierte (Abb. 33a). Dendriten zeigten eine segmentale Verbreiterung, teils mit Ablagerung von Neurofilament, dichten Körperchen und Mitochondrien, teils erschien dieser Raum elektronenlicht (Abb. 33b, 34a). Seltener waren in Axonen und Dendriten lysosomale Vakuolen von durchschnittlich 0,12 bis 1,5 µm und rundliche Einschlusskörperchen zu sehen. Diese wiesen einen Durchmesser von 0,7 bis 4,6 µm und eine feingranuläre Matrix mit tubulären Strukturen auf. Sie waren von einer doppelten Membran begrenzt (Abb. 34b). In der Groß- und Kleinhirnrinde wurden Sphäroide, Aggregate von dichten Körperchen, Mitochondrien und/oder Vakuolen, insbesondere in Dendriten und Axonen, nachgewiesen. Einschlusskörperchen waren nur in Dendriten zu beobachten. Im Hippocampus fand sich lediglich im Stratum moleculare eine Vakuolisierung. Axonale Degenerationen lagen bei Ziege 5075 in hochgradiger, bei Tier 5069 dagegen in sehr geringgradiger Ausprägung vor. Letztere wies zusätzlich deutliche große Einschlusskörperchen auf.

#### 3.2.2.6.1.2 Gliazellen

Die **Astrozyten** wiesen deutlich ödematöse Veränderungen auf. Bei den Ziegen 5074 und 5075 fanden sich nahezu elektronenlicht dilatierete Zellkörper und -fortsätze, die nur wenige Gliafilamente und Residualkörperchen sowie wenige Glykogengranula enthielten. In Astrozyten der Großhirnrinde fanden sich wenige Vakuolen in zytoplasmatischen Fortsätzen und Fußfortsätzen (Abb. 35a). Einzelne Vakuolen waren auch in Bergmann-Glia der Kleinhirnrinde erkennbar. Bei der Ziege 5069 bildeten Astrozyten in Klein- und Großhirnrinde sowie im Hippocampus dichte Bündel von filamentreichen Fortsätzen (Abb. 35b) und Fußfortsätzen, zusätzlich traten ähnliche Einschlusskörperchen wie in den Neuronen auf. In der Kleinhirnrinde

wurde eine Proliferation der Bergmann-Glia mit deutlicher Intermediärfilamentbildung festgestellt.

In den **Oligodendrozyten** fanden sich nur vereinzelt zytoplasmatische Vakuolen.

#### **3.2.2.6.1.3 Blutgefäße**

Die Endothelien der Blutgefäße enthielten nur gelegentlich einzelne zytoplasmatische Vakuolen. Dagegen waren in perikapillären Zellen häufig zahlreiche Vakuolen nachweisbar.

#### **3.2.2.6.1.4 Kinetik der elektronenmikroskopischen Befunde**

Die Kinetik der ultrastrukturellen Befunde in der Kleinhirnrinde ist in den Tabellen 19 und 20 aufgeführt.

Das Tier, welches **am 30. Versuchstag** euthanasiert wurde, wies in den Purkinjezellen (Abb. 32) eine mittelgradige und in den Korbzellen eine gering- bis mittelgradige Vakuolisierung auf. Einzelne Vakuolen traten zusätzlich in vereinzelt Sternzellen auf. In einigen Parallelfasern und Dendriten der Purkinjezellen sowie Axonen der Korbzellen befanden sich einzelne dichte und Residualkörperchen (Abb. 36a). Eine Sphäroidbildung konnte im Stratum granulosum in geringgradiger Ausprägung in myelinisierte Axonen von Purkinjezellen und auch in nicht klassifizierten nicht myelinisierten Axonen beobachtet werden (Abb. 36 b).

Die Ziege, die **am 40. Versuchstag** getötet wurde, zeigte ebenfalls eine hochgradige Vakuolisierung in Purkinje-, Korb- und Golgizellen. In Sternzellen wurden gleichartige Veränderungen in gering- bis mittelgradiger Ausprägung sowie vereinzelt in Granulosazellen festgestellt. Eine Sphäroidbildung lag nur in Purkinjezellaxonen vor. Parallelfasern und Dendriten der Purkinjezellen sowie Axone der Korbzellen enthielten vereinzelt dichte Körperchen.

Die zwei Ziegen, die **am 53. bzw. 64. Versuchstag** starben, zeigten im allgemeinen die gleichen Veränderungen bezüglich der Vakuolisierung wie jenes Tier, welches am 40. Versuchstag getötet wurde (Abb. 37a, 38a, b, c). Auffällig waren zusätzlich eine hochgradige Sphäroidbildung in Purkinjezellaxonen (Abb. 38b). Weiterhin lag

eine ausgeprägte Ablagerung von dichten Körperchen in Dendriten von Purkinjezellen und Korbzellaxonen sowie in Parallelfasern (Abb. 37a, b) vor. Geringgradige dieser Ablagerungen fanden sich in Kletterfasern, Moosfasern und den Glomeruli des Kleinhirns. In den Korbzellaxonen und Parallelfasern war zusätzlich eine segmentale Ansammlung von granulo-retikulärem Material (Abb. 37b) zu sehen. Einschlußkörperchen in Dendriten waren sichtbar. In Astrozyten konnten Ödem, dichte Körperchen und Membranfragmente beobachtet werden.

Das **am 70. Versuchstag** euthanasierte Tier wies lediglich in den großen Golgizellen eine Vakuolisierung auf. Sphäroidbildungen in Purkinjezellaxonen und dichte Körperchen in Dendriten traten seltener auf, dagegen waren Einschlußkörperchen in Dendriten ein häufiger Befund. Weiterhin erschien die Bergmann-Glia proliferiert und ihre Fasern hypertrophiert.

## 4 DISKUSSION

Im November 1992 entwickelte sich in verschiedenen Gemeinden im Flußtal des São Francisco eine Dürreperiode, in deren Verlauf es zu großen Verlusten in der Hauswiederkäuerpopulation kam. Besonders bei Ziegen, aber auch bei Schafen und Rindern traten häufig Erkrankungen mit progredienten neurologischen Ausfallserscheinungen auf, als deren Ursache die Aufnahme von *Ipomoea fistulosa* angesehen wurde.

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungen belegen und bestätigen die Toxizität dieser Pflanze und zeigen, daß das experimentell induzierte Krankheitsbild sich nicht von demjenigen spontan erkrankter Tiere unterscheidet. Die Untersuchungen belegen weiterhin, daß die Aufnahme von *Ipomoea fistulosa* eine systemische Glykoproteinspeicherkrankheit auslöst, die mit einer lysosomalen Speicherung von Oligosacchariden des mannosereichen, hybriden und komplexen Typs einhergeht. Im Gehirn entwickeln sich darüber hinaus degenerative Veränderungen, vor allem in GABA-ergen Neuronen, welche für die das Krankheitsbild bestimmenden neurologischen Ausfallserscheinungen verantwortlich sind.

### 4.1 Taxonomie und Toxine von *Ipomoea fistulosa*

Die taxonomische Stellung der zur Familie der Convolvulaceae gehörenden Pflanze ist umstritten. Nach der Auffassung von **AUSTIN (1977)** und **AUSTIN und HUÁMAN (1996)** sind die Kriterien für die Zuordnung von *Ipomoea fistulosa* und *Ipomoea carnea* zu zwei getrennten Spezies nicht erfüllt. Sie werden deshalb zu der Spezies *Ipomoea carnea* mit den Subspezies *Ipomoea carnea* subsp. *fistulosa* [(Mart. ex Choisy) D. Austin] und *Ipomoea carnea* subsp. *carnea* [(Jacq.) D. Austin] zusammengefaßt. Während erstere vorwiegend in Feuchtgebieten, besonders an Ufern von Staubeen, Seen und Flüssen vorkommt, wird letztere hauptsächlich in Trockengebieten mit Dornstrauchvegetation angetroffen. Obwohl aus biologisch und klimatisch völlig unterschiedlichen Gebieten stammend, wiesen die in Petrolina/Juazeiro und Itaguaí gefundenen Pflanzen keine morphologischen Unterschiede auf. Deshalb

und weil in Brasilien bis heute die Bezeichnung *Ipomoea fistulosa* (Mart. ex Choisy) gebräuchlich ist (**TOKARNIA et al., 1960, 1979**) wird diese auch in der vorliegenden Arbeit verwendet.

Nach jüngsten, noch nicht publizierten Untersuchungen von **MOLYNEUX (pers. Mitteilung)** enthält *Ipomoea fistulosa* aus den in dieser Studie untersuchten Gebieten Brasiliens die toxischen Alkaloide Swainsonin und Calystegin B<sub>2</sub>, die zuvor bereits aus *Ipomoea carnea* subsp. *fistulosa* in Mozambique (**DE BALOGH et al., 1999**) und aus *Ipomoea* sp. Q6 (aff. *calobra*) (**MOLYNEUX et al., 1995**) isoliert worden waren. Ursprünglich wurde Swainsonin, ein Indolizidintrihydroxyl-Alkaloid, von **COLEGATE et al. (1979)** in *Swainsona canescens* (Familie Fabaceae) gefunden und ist auch in anderen Schmetterlingsblütlern der *Astragalus* (**MOLYNEUX und JAMES, 1982**) und *Oxytropis* spec. („Locoweed“) enthalten. Die wesentlichen biologischen Wirkungen von Swainsonin bestehen in einer Blockade der lysosomalen  $\alpha$ -Mannosidase und der Golgi  $\alpha$ -Mannosidase-II (**DORLING et al., 1980; TULSIANI et al., 1982; WALKLEY und SIEGEL, 1989**).

Bei dem Alkaloid Calystegin handelt es sich um ein Trihydroxyl- und Tetrahydroxyl-Nortropan, das erstmals aus den Convolvulaceen *Calystegia sepitum* (**TEPFER et al., 1988**) und *Convolvulus arvensis*, der Ackerwinde (**MOLYNEUX et al., 1993**) isoliert wurde, das aber auch in verschiedenen Solanaceen enthalten ist (**MOLYNEUX et al., 1995**). Die bisher bekannten Wirkungen bestehen in einer Hemmung der Enzyme  $\beta$ -Glykosidase und  $\alpha$ -Galaktosidase.

#### 4.2 Epizootiologie und klinisches Bild

Spontane Vergiftungen durch *Ipomoea fistulosa* treten in den untersuchten Gebieten im Tal des Flusses São Francisco nach Aussagen der befragten Tierhalter regelmäßig im Verlauf von Dürreperioden auf und sind auch aus anderen Gebieten Brasiliens schon seit dem letzten Jahrhundert (**FREIRE und ALEMÃO, 1884, zit. nach ALMEIDA COSTA, 1948**) unter Namen wie Canudo-Vergiftung, Mata cabra-Vergiftung u.a. bekannt (**TOKARNIA et al., 1960, 1979**).

Zu klinischen Erscheinungen kommt es, wie auch diese Untersuchungen zeigen, offenbar erst dann, wenn, bedingt durch die anhaltende Dürre, Gräser als Futterpflanzen nicht mehr vorhanden sind und fast ausschließlich *Ipomoea fistulosa* aufgenommen werden kann (TOKARNIA et al., 1960; IDRIS et al., 1973; TIRKEY et al., 1987). Wie ein großer Vergiftungsausbruch in Mozambique (DE BALOGH et al., 1999) und auch der hier beschriebene sporadische Fall aus der Gemeinde Itaguaí in der Provinz Rio de Janeiro zeigen, können Vergiftungen allerdings auch auftreten, wenn durch eine räumliche Einschränkung der Weideflächen eine Verarmung an Futterpflanzen eintritt und nur noch *Ipomoea fistulosa* als Futter verfügbar ist.

Experimentell konnte die Erkrankung bei Ziegen und Schafen durch Verfütterung von *Ipomoea fistulosa* ausgelöst werden. Dabei fanden sich im Krankheitsverlauf, im klinischen Bild und in den histopathologischen Veränderungen keine wesentlichen Unterschiede zwischen Tieren, die ausschließlich mit *Ipomoea fistulosa* und solchen, die mit 50% bzw. 25% Grasgemischen gefüttert worden waren. Offenbar lassen sich auch mit wesentlich geringeren Mengen bei kleinen Wiederkäuern Vergiftungserscheinungen auslösen. So berichten andere Autoren (ADAM et al., 1973; DAMIR et al., 1987; SRILATHA et al., 1993, a, b) über Erkrankungen schon bei einer täglichen Gabe von 5g/kg KM an grünen Pflanzen, eine um das 5-fache geringere Menge als die in den eigenen Untersuchungen verabreichte.

Die aufgenommenen Mengen an *Ipomoea fistulosa* und der klinische Verlauf der Erkrankung waren individuell sehr variabel, wie es auch von anderen Autoren beschrieben wird (TOKARNIA et al., 1960; ADAM et al., 1973; TARTOUT et al., 1974; DAMIR et al., 1987; SRILATHA, 1993 a, b). Ob hierfür unterschiedliche Toxingehalte im Futter verantwortlich sind, muß offenbleiben, da entsprechende quantitative Untersuchungen an *Ipomoea fistulosa* weder im Rahmen der eigenen Studie noch von anderen Autoren durchgeführt wurden. Mit einer solchen Möglichkeit muß aber gerechnet werden, da bei Vergiftungen mit *Swainsona* spp. und *Oxytropis* spp. (Locoweed) starke Schwankungen des Toxingehaltes der Pflanzen beschrieben werden (HUXTABLE und DORLING,

**1982; JAMES und PANTER, 1989**). Von Swainsonin ist bekannt, daß die Applikation einer Dosis von 1,0 bzw. 0,8 mg/kg KM/Tag bei Schafen und Rindern nach 30 Tagen zentralnervöse Symptome und histopathologische Veränderungen auslöst. Höhere Dosen beeinflussen interessanterweise weder den Krankheitsverlauf noch das histopathologische Bild (**STEGELMEIER et al., 1995, 1999, a, b**).

Möglicherweise spielen bei der Induktion der Vergiftung noch andere unbekannt, individuell unterschiedliche Faktoren eine Rolle als die Menge aufgenommener Toxine. Einen möglichen Hinweis darauf gibt die Beobachtung, daß Ziegen, die ausschließlich mit *Ipomoea fistulosa* gefüttert worden waren, eine längere Überlebenszeit aufwiesen als Tiere, die ein Futtergemisch mit 25% *Ipomoea fistulosa* erhalten hatten.

Nach Angaben von Züchtern aus den betroffenen Gebieten sollen Ziegen ein suchtartiges Verlangen nach *Ipomoea fistulosa* entwickeln, worüber auch von **SCHMIDT und GONÇALVES LINS (1956)** berichtet wird. Die Entstehung einer Abhängigkeit wird auch bei Vergiftungen mit *Astragalus* spp. und *Oxytropis* spp. von einigen Autoren beschrieben (**MARSH, 1909; KINGSBURY, 1964; EVERIST, 1981**). Die Ergebnisse der eigenen Untersuchungen geben hierfür jedoch keine Anhaltspunkte. So zeigten sowohl Tiere, die ausschließlich als auch solche, die einen Anteil von 50% *Ipomoea fistulosa* im Futter erhielten, eine deutliche Bevorzugung für grünes Gras, wenn dieses alternativ angeboten wurde. Dies steht im Einklang mit **TOKARNIA et al. (1960)**, die bei der experimentellen *Ipomoea fistulosa*-Vergiftung und **RALPHS und MOLYNEUX (1989)**, die bei Vergiftungen mit *Astragalus* sp. und *Oxytropis* sp. die Entwicklung einer Abhängigkeit von den Giftpflanzen bzw. Swainsonin verneinen.

Über den Beginn der klinischen Erkrankung bei den acht Ziegen mit spontaner Vergiftung in der Dürreperiode von 1992 lagen nur die Angaben der Tierbesitzer vor. Danach wurden neurologische Symptome erstmals etwa 4 Wochen nach der ersten Aufnahme der Pflanze beobachtet. Die ersten der während der normalen jährlichen Trockenzeit auftretenden Vergiftungsfälle sollen dagegen 3- 4 Monate nach dem Ende der Regenzeit beobachtet werden. Diesen Zahlen

ist allerdings mit Zurückhaltung zu begegnen, da angesichts der halb wilden Lebensweise der Ziegen in den untersuchten Gebieten eine kontinuierliche Untersuchung des Gesundheitszustandes von Einzeltieren nur bedingt möglich ist. Den entsprechenden spärlichen Angaben in der Literatur ist zu entnehmen, daß erste Symptome offenbar schon 2 Wochen nach Beginn der Aufnahme von *Ipomoea fistulosa* auftreten können (**MACEDO, 1952**).

Bei der experimentellen Vergiftung wurden neurologische Symptome schon 22 Tage nach Versuchsbeginn beobachtet, während die entsprechende Zeit von anderen Autoren mit 5-6 Wochen angegeben wird (**IDRIS et al., 1973; DE BALOGH et al., 1999**).

Über die Mortalität der spontanen Vergiftung mit *Ipomoea fistulosa* liegen keine verwertbaren Daten in der Literatur vor, und auch die eigenen Untersuchungen geben hierüber nur unzureichend Aufschluß. Insgesamt dürfte sie aber sehr hoch sein, da den spärlichen Literaturangaben zu entnehmen ist, daß die Ziegen meist nach mehrwöchigem Krankheitsverlauf sterben (**SCHMIDT und GONÇALVES LINS, 1956; DE BALOGH et al., 1998, 1999**). Allerdings können sich die Tiere offenbar von der Erkrankung erholen, wie aus den Angaben der Tierhalter und anderer Autoren (**NEIVA und PENNA, 1916; DE BALOGH et al., 1998, 1999**) hervorgeht. Die Annahme einer hohen Mortalität wird auch durch das Ergebnis der experimentellen Untersuchungen unterstützt. Eine Ziege starb am 83. Versuchstag, alle anderen mußten wegen fortgeschrittener neurologischer Symptome oder in moribundem Zustand euthanasiert werden. Auch die Ergebnisse anderer Autoren bestätigen die hohe Mortalität der *Ipomoea fistulosa*-Vergiftung, wobei über Todesfälle zwischen 15 und 121 Tagen nach Fütterungs- bzw. Krankheitsbeginn berichtet wird (**TARTOUR et al., 1974; DAMIR et al., 1987; SRILATHA et al., 1993 a, b**). Ein späte Manifestation der Erkrankung, wie sie von den letzteren Autoren beschrieben wird, konnte im eigenen Untersuchungsgut nicht registriert werden.

Da das Krankheitsbild sowohl der spontanen als auch der experimentellen Vergiftung durch neurologische Ausfallserscheinungen geprägt war, beschränkte sich die klinische Untersuchung im wesentlichen auf eine Analyse dieser Symptomatik, während weitere Untersuchungen nur begrenzt, oder, wie

klinisch-chemische Untersuchungen, nicht durchgeführt wurden bzw. aus äußeren Gründen nicht erfolgen konnten.

Die detaillierte Erfassung der neurologischen Symptome und ihre Entwicklung, die direkt und anhand von Videofilmen erfolgte, erschien notwendig, weil zum einen die bisher vorliegenden Beschreibungen des Krankheitsbildes nur mehr oder weniger fragmentarisch sind. Zum anderen konnte nur so geprüft werden, ob eine Korrelation zwischen der zeitlichen Entwicklung von Art und Verteilungsmuster der morphologischen Hirnveränderungen und dem zeitlichen Ablauf und der Art der neurologischen Ausfallserscheinungen bestand.

Es wurde eine Vielzahl von neurologischen Störungen beobachtet, die Bewußtsein und Verhalten, Bewegungsablauf, Haltungs- und Stellreaktionen, spinale Reflexe sowie verschiedene Hirnnervenfunktionen betrafen. Sie wurden gleichermaßen, wenn auch in individuell sehr unterschiedlicher Ausprägung, bei spontanen und experimentellen Erkrankungen beobachtet. Im Vordergrund standen bei allen Tieren Störungen im Bewegungsablauf, wie Schwanken, Hypermetrie und Paresen unterschiedlichen Grades. Eine regelmäßig auftretende Verhaltensstörung bestand in einem auffälligen Kopfschütteln, verbunden mit Ohrenkratzen. Bei den ebenfalls häufigen Störungen der Haltungs- und Stellreaktionen erwies sich besonders die Unfähigkeit, sich aus der Seitenlage zu erheben („Aufsteh-Prüfung“) als ein Symptom, das bei allen Tieren auftrat. Störungen verschiedener spinaler Reflexe lagen auch in der Mehrzahl der Fälle vor, ebenso ophthalmologische Abweichungen, wie veränderte Pupillarreflexe, Strabismus und abnormer Nystagmus. Soweit die oft nur fragmentarischen Beschreibungen und die Verwendung einer nicht immer einheitlichen Terminologie der neurologischen Symptome in der Literatur einen Vergleich zulassen, stimmen die in den vorliegenden Untersuchungen verzeichneten Ausfallserscheinungen bei spontanen und experimentellen Vergiftungen mit *Ipomoea fistulosa* und *Ipomoea carnea* zumindest qualitativ mit den Beschreibungen anderer Autoren überein (**FREIRE ALEMÃO, 1884; NEIVA und PENNA, 1916; MACEDO, 1952; TOKARNIA et al., 1960; IDRIS et al., 1973; TARTOUT et al., 1974; DAMIR et al., 1987; SRILATHA et al., 1993; DE BALOGH et al., 1998, 1999**). Daten über die zeitliche Entwicklung der

neurologischen Symptome bei der experimentellen Vergiftung mit *Ipomoea fistulosa* bzw. *Ipomoea carnea* liegen dagegen bisher nicht vor. Die eigenen Untersuchungen zeigen, daß trotz großer individueller Schwankungen am Anfang des Krankheitsgeschehens Bewußtseinsstörungen mit Apathie und den bereits erwähnten auffälligen Schüttelbewegungen des Kopfes standen. Als ein für die klinische Diagnose auch der Spontanerkrankung möglicherweise wichtiges Frühsymptom ist die Unfähigkeit anzusehen, sich aus der Seitenlage wieder zu erheben, was bei allen Tieren beobachtet wurde. Auch Bewegungsstörungen, wie schwankender Gang, Hypermetrie, Intentionstremor sowie Paraparesen wurden schon in den früheren Krankheitsstadien beobachtet. Dagegen traten Störungen spinaler Reflexe in Form von Hyper- und Hyporeflexien überwiegend im späteren Krankheitsverlauf auf. Ähnliches gilt für defiziente Hirnnervenfunktionen, die bei der Mehrzahl der Tiere vorkamen, aber ebenfalls meist erst im fortgeschrittenen Krankheitsstadium manifest wurden.

Bei der chronischen Locoweed-Vergiftung können bei Wiederkäuern noch andere Krankheitserscheinungen, wie Veränderungen des Haarkleides, kardiovaskuläre Erkrankungen, vor allem aber Reproduktionsstörungen verschiedener Art in Gestalt von herabgesetzter Libido, Infertilität, Aborten und Eihautwassersucht auftreten. Auch soll es zu einer erhöhten Anfälligkeit gegenüber Infektionskrankheiten, vor allem des Respirationstraktes, kommen, die mit einer zumindest *in vitro* nachgewiesenen Wirkung von Swainsonin auf verschiedene Funktionen des Immunsystems in Verbindung gebracht wird. Pathogenetisch spielen dabei möglicherweise durch die Inhibierung der Golgi- $\alpha$ -Mannosidase II ausgelöste Veränderungen der Proteinglykosylierung eine Rolle (**Übersicht bei STEGELMEIER et al., 1999 a, b**). Über ähnliche Folgeerkrankungen bei Vergiftungen mit *Ipomoea carnea* ist nur wenig bekannt. Den in der vorliegenden Untersuchung von den Tierhaltern erhaltenen Angaben über vermehrtes Vorkommen von Parasitosen, verminderten Reproduktionsraten und Aborten bei Wiederkäuern im Zusammenhang mit der dürrebedingten Aufnahme von *Ipomoea fistulosa* kommt nicht mehr als anekdotische Bedeutung zu. Angesichts des Wirkungsmechanismus von

Swainsonin ist aber auch bei *Ipomoea*-Vergiftungen mit dem Auftreten einer ähnlichen Multimorbidität zu rechnen wie bei der Locoweed-Vergiftung. Gezielte interdisziplinäre Untersuchungen dieses Fragenkomplexes erscheinen wegen der möglicherweise hohen wirtschaftlichen Bedeutung der genannten Folgekrankheiten deshalb sehr notwendig.

#### 4.3 Pathologie

Bis auf eine hochgradige Abmagerung konnten bei der Obduktion keine auffälligen pathologisch-anatomischen Veränderungen festgestellt werden. Insbesondere fanden sich makroskopisch keine Hinweise auf das Vorliegen einer Kleinhirnatrophie, wie sie von **DE BALOGH et al. (1998,1999)** bei Spontanvergiftungen von Ziegen mit *Ipomoea carnea* subsp. *fistulosa* in Mozambique beschrieben wurde.

Sowohl bei der spontanen als auch bei der experimentell induzierten Vergiftung mit *Ipomoea fistulosa* bestanden die wesentlichen histopathologischen Veränderungen in einer zytoplasmatischen Vakuolisierung von Neuronen, weniger auch Gliazellen, und von Parenchymzellen einer Reihe weiterer Organe. Im ZNS wurden weiterhin degenerative Veränderungen in Form einer neuroaxonalen Dystrophie mit Sphäroidbildung sowie Nekrosen und ein Verlust von Ganglienzellperikarya festgestellt. Damit entsprechen die Veränderungen weitgehend denjenigen, die bei der Vergiftung mit *Swainsona* spp. und *Astragalus* spp. und *Oxytropis* spp. - der Locoweed-Vergiftung - bekannt sind (**DORLING et al., 1978; HARTLEY et al., 1971, 1981; HUXTABLE et al., 1982; JAMES et al., 1970, 1989; VAN KAMPEN und JAMES, 1969, 1970; LOCKE et al., 1978**) und wie sie kürzlich bei *Ipomoea carnea*-Vergiftungen in Mozambique beschrieben worden sind (**DE BALOGH et al., 1999**). Sie ähneln auch den bei der genetischen  $\alpha$ -Mannosidose bestimmter Rinderrassen und der Katze erhobenen morphologischen Befunden (**Übersicht bei JOLLY und WALKLEY, 1997**).

Vor allem in größeren Neuronen fanden sich gewöhnlich zahlreiche Vakuolen, die dem Perikaryon ein mehr oder weniger schaumiges Aussehen verliehen. In kleineren Ganglienzellen mit nur gering ausgebildeten Perikarya, wie z.B. im

Stratum granulosum des Kleinhirns und in Gliazellen, waren die Vakuolen, vor allem, wenn nur wenige vorhanden waren, in der H.E.-Färbung oft nicht zu erkennen. Wie von  $\alpha$ -Mannosidosen unterschiedlicher Genese bekannt ist (**HARTLEY, 1971; VAN KAMPEN und JAMES, 1969**), waren sie auch mit Spezialfärbungen, wie der PAS-Reaktion und der Kresylviolett-färbung nicht anfärbbar. Eine sehr deutliche Darstellung der Vakuolen war mit Hilfe der Lektin histochemie, besonders mit Con-A und WGA möglich.

Bei Lektinen handelt es sich um überwiegend pflanzliche Proteine, die spezifisch mit bestimmten Kohlenhydratstrukturen reagieren und damit zu deren Identifizierung dienen können. Lektin histochemische Untersuchungen können als diagnostische Hilfsmittel eingesetzt werden, um bestimmte Zucker, z. B. bei Glykoproteinspeicherkrankheiten, *in situ* zu identifizieren. Obwohl die Zucker prinzipiell wasserlöslich sind und deshalb bei der Fixierung von Geweben in wässrigen Medien und bei der Einbettung partiell ausgewaschen werden, können lektin histochemische Methoden zum Teil auch an formalinfixierten Paraffinschnitten eingesetzt werden, um freie (evtl. auch Protein-gebundene) Zuckerreste in lysosomalen Vakuolenmembranen nachzuweisen (**ALROY et al., 1984, 1985, 1986; JOLLY und WALKLEY, 1997**).

Viele Lektine erkennen Monosaccharide in nicht-reduzierenden Positionen. Andere erkennen bestimmte Sequenzen von Oligosacchariden (**LIS und SCHARON, 1986**). Con-A und LCA erkennen die Monosaccharid-Bausteine  $\alpha$ -D-Mannose und  $\alpha$ -D-Glukosamin (**GOLDSTEIN und HAYES, 1978**). Con-A bindet weiterhin an die Oligosaccharidkette  $\text{Man}\alpha(1-6)\text{Man}\alpha(1-3)\text{Man}\beta$ . Damit lassen sich die mannosereichen Typen, die hybriden Typen und diantennären komplexen Typen von Oligosacchariden identifizieren (**HOUNSELL, 1997**). LCA hat weiterhin eine Affinität zu diantennären Glykopeptiden, die eine  $\alpha$ -Fucose(1-6) in der Position GlcNAcAsn besitzen (**DEBRAY et al., 1981; HOUNSELL, 1997**). WGA erkennt Chitobiosyl (GlcNAc $\beta$ 1-4GlcNAc)-Reste und auch NeuNAc-Reste (**ALLEN et al., 1973; DEBRAY et al., 1981**). S-WGA erkennt besonders Chitobiosyl-Einheiten. Da dieses Lektin negativ geladen ist, bindet es nicht an das Molekül NeuNAc, sondern an GlcNAc, das eine ähnliche Struktur wie NeuNAc hat (**MONSIGNY et al., 1980**). RCA identifiziert die Reste

von  $\beta$ -D-GalNAc und  $\beta$ -D-Gal (**GOLDSTEIN und HAYES, 1978**). Dabei erkennt es Hybridtypen und diantennäre fucosylierte Oligosaccharide (**HOUNSELL, 1997**). PNA erkennt dagegen das Disaccharid  $\beta$ -Gal(1-3)GalNAc (**LOTAN und SHARON, 1978**).

In den vorliegenden Untersuchungen wurden die Vakuolenmembranen von neuralen und extraneuralen Geweben durch die Lektine Con-A und WGA sehr deutlich markiert. Dagegen markierten die Lektine LCA, PNA, RCA und S-WGA selektiv nur die Vakuolenmembran bestimmter Zellen verschiedener Organe. Das lektinhistochemische Muster zeigt, daß die identifizierten, nicht reduzierenden Reste oder ihre Sequenz zu den N-glykosidisch gebundenen Oligosaccharideinheiten vom mannosereichen, hybriden und komplexen Typ gehören. Damit ist hinreichend belegt, daß *Ipomoea fistulosa*, wie aufgrund des kürzlich beschriebenen Nachweises von Swainsonin (**DE BALOGH et al., 1999; MOLYNEUX, 1999, pers. Mitteilung**) zu erwarten ist, eine intralysosomale Speicherung von N-glykosidisch gebundenen Oligosaccharideinheiten induziert, wie sie bei der genetischen  $\alpha$ -Mannosidose und bei der Vergiftung mit *Swainsona* spp., sowie mit *Astragalus* spp. und *Oxytropis* spp. (Locoweed) auftritt (**ALROY et al., 1985, STEGELMEIER et al., 1995, 1999**).

Eine befriedigende Erklärung für die in den untersuchten Organen und Zellen qualitativ und quantitativ variierende Bindung verschiedener Lektine kann nicht gegeben werden. Möglicherweise reflektieren die verschiedenen Bindungsmuster individuell unterschiedliche metabolische Zustände der betroffenen Zellen bzw. Gewebe und eine unterschiedliche Struktur der gespeicherten Oligosaccharide (**ALROY et al., 1985**). So weist die starke LCA-Reaktion der Vakuolenmembranen in Neuronen auf eine Speicherung diantennären Glykane mit einer  $\alpha$ -Fucose in der Position GlcNAcAsn hin, die in Kupffer-Zellen, Azinuszellen des Pankreas und in Hepatozyten wesentlich schwächer ausgeprägt war. Eine deutliche LCA-Reaktion in Speicherlysosomen ist auch von der genetischen  $\alpha$ -Mannosidose der Katze bekannt (**CASTAGNARO et al., 1987; CASTAGNARO, 1990**). Eine Chitobiosyl-Einheit erkennende Bindung von S-WGA, wie sie in massiver Form in Neuronen und

Schwanzzellen beobachtet wurde und geringgradig auch in proximalen Tubulusepithelien der Niere auftrat, ist auch in neuronalen Vakuolen von Schweinen mit Locoweed-Vergiftung beschrieben worden (**ALROY et al., 1985**).

Die vor allem an der Vakuolenmembran nachweisbaren Reaktionsprodukte der Lektinbindung führten zu einer sehr akzentuierten Darstellung auch kleiner Vakuolen, die es erlaubte, auch in den genannten zytoplasmaarmen Neuronen und Gliazellen, aber auch in Parenchymzellen anderer Organe eine mit der H.E.-Färbung oft nicht erkennbare Vakuolisierung festzustellen. Dies ist auch deshalb von Bedeutung, da mit Hilfe des Lektinnachweises auch in frühen Erkrankungsstadien somit eine sichere und spezifische Diagnose möglich ist.

Elektronenmikroskopisch erwiesen sich die Vakuolen, wie bei anderen Mannosidosen (**JOLLY und WALKLEY, 1997**), als von einer einfachen Membran umgebene sekundäre Lysosomen. In Übereinstimmung mit den Befunden bei der *Ipomoea carnea*-Vergiftung (**DE BALOGH et al., 1999**) und anderen Swainsonin-induzierten Mannosidosen, war die Mehrzahl der Vakuolen optisch leer oder sie enthielten wenige Membranfragmente und/oder granulär-retikuläres osmiophiles Material. Bei den Membranfragmenten, die in wesentlich stärkerer Ausprägung auch bei der Swainsonin-induzierten  $\alpha$ -Mannosidose der Katze vorkommen (**WALKLEY et al., 1989**), handelt es sich wahrscheinlich um eine sekundäre Ansammlung von Glykolipiden (**JOLLY und WALKLEY, 1997**). Das Vorkommen von Vakuolen war sowohl in Neuronen als auch in Gliazellen überwiegend auf das Perikaryon beschränkt. Dies erklärt sich aus der Genese der Lysosomen aus dem im Perikaryon gelegenen Golgiapparat (**WALKLEY, 1998**). Es ist daher nicht verwunderlich, daß lektinhistochemisch im Neuropil nur wenige Vakuolen nachweisbar waren und auch elektronenmikroskopisch Axone und Dendriten nur vereinzelte Vakuolen aufwiesen.

Wie die Untersuchungsergebnisse zeigen, bestanden sowohl im Grad der neuronalen Vakuolisierung in den einzelnen Hirnregionen als auch in der Organverteilung deutliche Unterschiede. So wiesen Purkinjezellen und Neuronen der Kleinhirnrinde eine stärkere Vakuolisierung auf als solche der Großhirnrinde, und in einer Reihe von Organen war eine zytoplasmatische

Vakuolisierung überhaupt nicht oder nur in bestimmten Kompartimenten nachweisbar. Als mögliche Ursache dieser auch von anderen lysosomalen Speicherkrankheiten bekannten Befunde werden metabolisch bedingte Empfindlichkeitsunterschiede der einzelnen Organe und Gewebe oder Inhibitionsunterschiede von gewebsspezifischen Mannosidasen vermutet. So wurde gezeigt, daß Swainsonin unterschiedliche Affinitäten zu verschiedenen Mannosidasen hat, wobei auch möglicherweise Speziesunterschiede bestehen **(STEGELMEIER et al., 1995)**. Nach neuen toxikokinetischen Untersuchungen bei der Locoweed-Vergiftung differieren die Swainsonin-Konzentrationen in den einzelnen Organen und Geweben zum Teil erheblich. Es wird deshalb diskutiert, daß das Ausmaß der unterschiedlichen lysosomalen Oligosaccharidspeicherung unmittelbar mit der Swainsonin-Konzentration in den verschiedenen Organen und Geweben zusammenhängt **(STEGELMEIER et al., 1998, 1999)**.

Sphäroide stellen herdförmige Axonanschwellungen dar, die bei vielen animalen und humanen Erkrankungen vorkommen **(SUMMERS et al., 1995; GRAHAM und LANTOS, 1997)** und bei lysosomalen Speicherkrankheiten diagnostisch und pathogenetisch eine Schlüsselrolle spielen **(WALKLEY, 1998)**. Wie bei anderen genetischen und erworbenen  $\alpha$ -Mannosidosen **(JOLLY und WALKLEY, 1997)** bildeten sie in Übereinstimmung mit den Befunden von **DE BALOGH et al. (1999)** sowohl bei der spontanen als auch bei der experimentell induzierten *Ipomoea fistulosa*-Vergiftung der vorliegenden Arbeit einen der wichtigsten Befunde im Zentralnervensystem. Sie waren schon bei der H.E.-Färbung, deutlicher aber mit immunhistochemischen Methoden, erkennbar. Sie waren besonders durch den Nachweis von GAD, einem wichtigen Synthesenzym von  $\gamma$ -Aminobuttersäure darstellbar, das als wichtiger immunhistochemischer Marker für GABA-erge Neuronen gilt **(WALKLEY et al., 1991)**. Im Gegensatz zu den Angaben von **WALKLEY(1998)** wiesen sie darüber hinaus häufig eine deutliche Neurofilamentreaktion auf. Der, wenn auch graduell unterschiedliche, Nachweis von GAD in der Mehrzahl der Sphäroide belegt, daß auch bei der *Ipomoea fistulosa*-Vergiftung, wie bei anderen erblichen  $\alpha$ -Mannosidosen und der Swainsonin induzierten experimentellen  $\alpha$ -

Mannosidose der Katze (**WALKLEY et al., 1991**), vor allem GABA-erge Neuronen von gravierenden neuronalen Alterationen betroffen sind, obwohl lysosomale Speichervakuolen in allen Ganglienzellpopulationen gefunden wurden. Die Ursache für die erhöhte Vulnerabilität GABA-erger gegenüber anderen Neuronen in bezug auf die Sphäroidbildung ist nicht befriedigend geklärt. Es wird vermutet, daß wegen einer höheren elektrischen Feuerungsrate und höheren metabolischen Aktivität in GABA-ergen Neuronen ein höherer Turnover axonaler und synaptischer Komponenten vorliegt, der diese Zellen empfindlicher gegenüber axonalen Transportstörungen macht (**WALKLEY et al., 1991; WALKLEY, 1998**).

Ultrastrukturell wiesen die Sphäroide mit der segmentalen Ansammlung von dichten Körperchen, tubulo-vesikulären Strukturen und Mitochondrien die gleichen Merkmale auf, wie sie von diesen Strukturen bei anderen lysosomalen Speicherkrankheiten bekannt sind (**SUMMERS et al., 1995; GRAHAM und LANTOS, 1997; WALKLEY, 1998**).

Weder licht- noch elektronenmikroskopisch war mit den angewandten Untersuchungsmethoden die Bildung von Meganeuriten nachweisbar, die als ein wichtiger Befund bei lysosomalen Speicherkrankheiten gelten. Es handelt sich hierbei um parasomatische, im Ursprungskegel des Axons, also proximal des Initialsegmentes, gelegene Verdickungen (**PURPURA und SUZUKI, 1976; WALKLEY und PIEROK, 1986**). Im Gegensatz zu den distal dieser Region gelegenen axonalen Sphäroiden enthalten sie sekundäre Lysosomen, in denen das dem jeweiligen Enzymdefekt entsprechende Material gespeichert ist. Meganeuriten weisen häufig ektopische Dendriten in Form dornartiger Fortsätze auf („spiny meganeurites“), die nur in Golgi-Silberpräparationen darstellbar sind. Sie werden wahrscheinlich durch gespeicherte  $G_{M2}$ -Ganglioside induziert, die in einem Teil der Neuronen auch bei anderen als  $G_{M2}$ -Gangliosidosen vorkommen und dementsprechend bei einer Reihe humaner und animaler lysosomaler Speicherkrankheiten auftreten. Sie werden auch bei der experimentellen Swainsonin-induzierten Speicherkrankheit der Katze (**WALKLEY und SIEGEL, 1989**) beschrieben. Bei der experimentellen durch *Swainsona canescens* verursachten  $\alpha$ -Mannosidose des Schafes kommen zwar auch Meganeuriten

vor, die allerdings keine ektopischen Dendriten („aspiny meganeurites“) aufweisen (**HUXTABLE et al., 1982**). Eine ausführliche Diskussion der Problematik findet sich bei **WALKLEY (1998)**. Weitere Untersuchungen müssen deshalb prüfen, ob das Fehlen von Meganeuriten im vorliegenden Material nur auf nicht adäquaten Untersuchungsmethoden (vor allem Nichtanwendung der Golgi-Silberimprägnation) beruht, oder ob sich die morphologischen Veränderungen bei der *Ipomoea fistulosa*-Vergiftung in dieser Beziehung, möglicherweise speziesabhängig, tatsächlich von denen anderer lysosomaler Speicherkrankheiten unterscheiden.

Außer der Bildung von Sphäroiden fanden sich vor allem im Kleinhirn nur elektronenmikroskopisch erkennbare weitere neuronale Veränderungen in Form eines vermehrten Auftretens von dichten und vesikulären Körperchen und Myelinfiguren. Sie konnten vor allem im Perikaryon, weniger auch in den Zellfortsätzen aller Neuronentypen gefunden werden. In Korbzellaxonen und Parallelfasern war darüber hinaus eine segmentale Ansammlung fibrillären und granulo-retikulären Materials anzutreffen. Vor allem in Dendriten von Purkinjezellen wurden in späteren Krankheitsstadien nicht eindeutig klassifizierte, von einer Doppelmembran umgebene Einschlußkörperchen gefunden. Über die Genese dieser Veränderungen und ihre Bedeutung für das Krankheitsgeschehen sind allenfalls spekulative Aussagen möglich. Massivere Axonschädigungen im Sinne einer Wallerschen Degeneration und entsprechende Abräumreaktionen konnten dagegen weder licht- noch elektronenmikroskopisch nachgewiesen werden, obwohl dieses aufgrund des deutlichen Zellverlustes in der Purkinje- und Körnerzellschicht erwartet werden konnte. Eine befriedigende Erklärung dafür gibt es nicht. Bis auf das in Einzelfällen bei der experimentellen Swainsonin-Vergiftung des Schafes beschriebene herdförmige Auftreten derartiger Alterationen in der weißen Substanz der hinteren Medulla oblongata und der weißen Substanz in Hals- und Brustmark bei der experimentellen *Swainsona canescens*-Vergiftung des Schafes (**HUXTABLE et al., 1982**) liegen hierüber bisher auch keine Angaben in der Literatur vor.

Einen interessanten Befund stellte die deutliche Reduktion axo-somatischer Kontakte dar, wie sie sich beim immunhistochemischen Nachweis von GAD in der Kleinhirnrinde und vor allem in den Kleinhirnkernen darstellte. Ob diese tatsächlich auf einem Verlust der GABA-ergen Synapsen durch Axonuntergang oder nur auf einer Reduktion der GAD-Aktivität beruht, kann nicht entschieden werden, da elektronenmikroskopische Untersuchungen in den betreffenden Fällen nicht durchgeführt wurden. Da der anterograde Transport von GAD bei neuroaxonalen Dystrophien mit Sphäroidbildung aber nicht gestört ist (**WALKLEY et al., 1991; WALKLEY, 1998**), ist die erstere Möglichkeit allerdings wahrscheinlicher. Allerdings wurden dann zu erwartende Anzeichen einer transsynaptischen Degeneration an den betroffenen Ganglienzellen nicht bemerkt.

Die generell bei Speicherkrankheiten bekannte Nekroseneigung von Purkinjezellen (**WALKLEY, 1998**) wird auch durch die Ergebnisse der eigenen Untersuchungen belegt. Eindeutige Ganglienzellnekrosen waren besonders in der Purkinjezellschicht nachweisbar und führten hier in späteren Phasen der Erkrankung zu einem ausgeprägten Zellverlust. Gleichzeitig war die Sphäroidbildung in den Purkinjezellen besonders ausgeprägt. Die Ursache für den neuronalen Zelltod bei Swainsonin-Vergiftungen und anderen lysosomalen Speicherkrankheiten ist noch unklar. Da der Sphäroidbildung sehr wahrscheinlich eine Störung des retrograden axonalen Transportes zugrunde liegt und dem Zelltod vorausgeht, wird vermutet, daß es in Verbindung mit der Entstehung von Sphäroiden auch zu einer Störung des retrograden Transportes von Wachstumshormon oder anderen für das Überleben der Neuronen notwendigen Substanzen kommt, die den Zelluntergang zur Folge haben. Dagegen gibt es für Störungen des anterograden axonalen Transportes als Ursache dieser Veränderungen bislang keine gesicherten Kenntnisse (**WALKLEY, 1998**).

Lipofuszinablagerungen in Gliazellen, wie sie bei der *Ipomoea carnea*-Vergiftung der Ziege (**DE BALOGH et al., 1999**) und bei chronischer Vergiftung mit *Swainsona* spp. bei Schafen beschrieben werden (**HARTLEY, 1971**), konnten in dieser Studie nicht nachgewiesen werden.

Über Myelin- bzw. Oligodendrogliaschädigungen bei  $\alpha$ -Mannosidosen ist nur wenig bekannt (**VAN KAMPEN und JAMES, 1969; STEGELMEIER et al., 1999**). Wie die Ergebnisse der eigenen elektronenmikroskopischen und lektinhistochemischen Untersuchungen zeigen, kam es auch in Oligodendrogliazellen zu einer, wenn auch nur geringgradigen, lysosomalen Vakuolisierung. Störungen der Myelinbildung oder Myelinschädigungen in Form einer Demyelinisierung, wie sie von **HARTLEY (1971)** gelegentlich bei chronischer Swainsonin-Vergiftung in Faserzügen des Globus pallidus beobachtet wurde, konnten hier nicht gefunden werden.

Über Astrozytenveränderungen bei Swainsonin-induzierten Speicherkrankheiten finden sich in der Literatur ebenfalls meist nur beiläufige Hinweise auf eine nicht näher definierte Gliose. In dieser Studie konnten vor allem elektronenmikroskopisch nur vereinzelt Vakuolen in Astrozyten beobachtet werden. Neben einem intrazellulären Ödem, das besonders in den perivaskulären Fußfortsätzen bei zwei Tieren vorlag und das auch von **JAMES et al. (1970)** bei der *Swainsona*-Vergiftung des Schafes erwähnt wird, waren nennenswerte degenerative Veränderungen nicht erkennbar. Auch **STEGELMEIER et al. (1999)** weisen auf das nur gelegentliche Vorkommen einer zytoplasmatischen Vakuolisierung in Astrozyten bei der Locoweed-Vergiftung hin und schließen daraus auf eine gegenüber den Neuronen höhere Resistenz dieser Zellen gegen Swainsonin.

Auffällig war dagegen die Ausbildung einer reaktiven Astrogliose mit lichtmikroskopisch teilweise starker Vermehrung GFAP-reaktiver Zellfortsätze, der elektronenmikroskopisch das vermehrte Auftreten gliafilamentreicher Astrozytenfortsätze entsprach. Die bei allen Tieren mit spontaner *Ipomoea*-Vergiftung beobachtete Astrogliose war bei experimentell induzierten Fällen erst ab einer Versuchsdauer von mehr als 50 Tagen regelmäßig vorhanden, also später als die schon ab dem 20. Versuchstag in geringem Maße auftretende Sphäroidbildung. Insgesamt fand sich eine auch von **HARTLEY (1971)** bei der Vergiftung mit *Swainsona* sp. verzeichnete Beziehung zwischen dem Vorkommen von Sphäroiden und anderen degenerativen Veränderungen und der Entwicklung einer Astrogliose. So war eine massive Vermehrung der

Astrozytenfasern nur in Kerngebieten mit starker Sphäroidbildung und im Kleinhirn zusätzlich in Form einer Proliferation der Bergmannglia erkennbar, während sie in diesbezüglich weniger betroffenen Gebieten, wie der Großhirnrinde, weniger in Erscheinung trat. Die Astrogliose ist somit als eine Reaktion auf die stärkere neuronale Schädigung in den genannten Gebieten zu werten und dürfte nicht auf einer unmittelbaren Swainsoninwirkung beruhen.

Über die Rolle der Mikroglia bei animalen lysosomalen Speicherkrankheiten ist bisher kaum etwas bekannt. Auch die eigenen Untersuchungsergebnisse geben hierüber nur unzureichend Auskunft, da gezielte diesbezügliche Untersuchungen im Rahmen dieser Arbeit nicht durchgeführt werden konnten. Lektinhistochemisch wurden, vor allem in den stark veränderten Kerngebieten mit erhöhtem Zellgehalt, in fortgeschrittenen Erkrankungsphasen vermehrt zum Teil ramifizierte Zellen gefunden, die deutlich mit BS-I und RCA reagierten, welche als allerdings unspezifische Marker für mikroglöse Zellen gelten (**MANNOJI et al., 1986; BASZLER et al., 1994; SUMMERS et al., 1995; GRAHAM und LANTOS, 1997**). Zumindest die für Mikrogliazellen relativ typische Gestalt der markierten Zellen gibt aber einen Hinweis darauf, daß es bei der *Ipomoea*-Vergiftung auch zu einer Aktivierung der Mikroglia kommt, ähnlich wie sie bei der genetischen  $\alpha$ -Mannosidose des Rindes in Hirngebieten mit schwereren degenerativen Veränderungen auftreten kann (**JOLLY und THOMPSON, 1978**).

Außer einer nur lektinhistochemisch nachweisbaren Vakuolisierung von Schwannzellen und endoneuralen Fibroblasten konnten keine weiteren histopathologischen Veränderungen in peripheren Nerven gefunden werden. Dies bestätigt die Feststellungen von **PRITCHARD et al. (1989)** an Ratten und von **HUXTABLE et al. (1982)** an Schafen, daß bei der Swainsonin-Vergiftung trotz deutlicher neuroaxonaler Dystrophie des ZNS es offenbar nicht zu einer nennenswerten Schädigung peripherer Nerven kommt.

#### 4.4 Korrelation zwischen neurologischer Symptomatik und histopathologischen ZNS-Veränderungen

Die Feststellung von Zusammenhängen zwischen neurologischen Störungen und morphologischen Veränderungen des Nervensystems ist angesichts der komplexen Netzwerkstruktur dieses Organsystems sehr schwierig, zumal dann, wenn disseminierte oder multifokale Veränderungen vorliegen. Darüber hinaus sind vom Menschen und aus experimentellen Untersuchungen an einzelnen Tierspezies bekannte funktionelle Beziehungen zwischen neurologischen Störungen und der Topik morphologischer Veränderungen nur begrenzt zu verallgemeinern. So liegen einschlägige funktionell-anatomische Untersuchungen bei der Ziege offenbar nicht vor, so daß der Versuch einer Korrelation der neurologischen Symptomatik mit dem Spektrum morphologischer Alterationen bei der *Ipomoea fistulosa*-Vergiftung der Ziege nur mit Vorbehalt vorgenommen werden kann.

Die Ergebnisse der experimentellen Untersuchungen zeigen, daß morphologische Veränderungen in Gestalt einer neuronalen Vakuolisierung zwar schon nach 20-tägiger Versuchsdauer nachweisbar und zumindest im Kleinhirn 40 Tage nach Versuchsbeginn deutlich ausgeprägt waren, nennenswerte neurologische Ausfallserscheinungen aber erst nach einer Versuchsdauer von mehr als 50 Tagen in Erscheinung traten. Über die in allen Hirnregionen vorkommende Vakuolisierung hinausgehende neuronale Alterationen, vor allem die Bildung axonaler Sphäroide, aber auch Ganglienzellnekrosen, ein Ganglienzellverlust in der Purkinjzellschicht sowie eine Astrogliose wurden mehr oder weniger konstant und in deutlicher Ausprägung erst ab diesem Zeitpunkt beobachtet. Hieraus kann geschlossen werden, daß die neurologischen Krankheitserscheinungen wahrscheinlich nicht durch die lysosomale Speicherung von Oligosaccharidresten ausgelöst werden, sondern eine Folge weitergehender Zellschädigungen, insbesondere der Sphäroidbildung sind (vgl. auch S. 64). Sie wurden überwiegend im Kleinhirn gefunden, was gut mit der klinischen Symptomatik übereinstimmt, die auf eine dominierende zerebelläre Dysfunktion hinweist.

Das Kleinhirn hat wichtige Funktionen der Regulation der motorischen Steuerung und der Körperhaltung. Sie wird durch Informationen induziert, die vom oberen motorischen Neuron über initiierte Bewegung, vom allgemeinen propriozeptiven System über die Position des Körpers und der Extremitäten im Raum und vom speziellen propriozeptiven System (Vestibularsystem) über die Stellung des Kopfes kommen. Es ist frontal in einen rostralen und kaudalen Lobus und sagittal in drei Zonen korrespondierender Kerngebiete gegliedert: die Vermalzone, die den Nucleus fastigii mit dem Nucleus vestibularis lateralis verbindet, die Paravermalzone, die mit dem Nucleus interpositus und die Lateralzone, die mit dem Nucleus lateralis verbunden ist (**BRODAL, 1967; POPEIANO, 1967; DE LAHUNTA, 1983**).

Die Vermalzone ist für die Kontrolle der Haltung, des Muskeltonus, der Lokomotion und des Gleichgewichtes verantwortlich. Die Paravermalzone stimmt den Tonus und die Stellung zur Regulierung der motorischen Feinmechanik der Extremitäten ab, und die vor allem bei Primaten ausgebildete Lateralzone ist für die Koordination der Aktivität des motorischen Kortex bei der Ausführung feinmechanischer Bewegungen verantwortlich. Bei einer Schädigung in den verschiedenen Arealen kommt es zu charakteristischen Ausfallserscheinungen. So führen Veränderungen im rostralen Lobus zu Opisthotonus, Hyperextension der Vordergliedmaßen sowie einer Hypertonie der Hintergliedmaßen. Läsionen des kaudalen Lobus gehen mit Hypermetrie, Intentionstremor und Hypotonie einher, während eine Schädigung im Lobus flocculonodularis zu Gleichgewichtsstörungen, breitbeiniger Haltung und abnormem Nystagmus führen (**DE LAHUNTA, 1983**).

Sowohl bei der spontanen als auch bei der experimentellen Vergiftung mit *Ipomoea fistulosa* bildeten sowohl der rostrale als auch der kaudale Lobus der Vermalzone und die zugehörigen Kleinhirnkerne die Regionen, in denen die stärksten degenerativen Veränderungen mit Sphäroidbildung, Ganglienzellnekrosen und Zellverlust, vor allem in der Purkinjezellschicht, sowie eine deutliche Astrogliose auftraten. Dagegen waren die Kleinhirnhemisphären und andere Regionen nicht oder weniger deutlich von derartigen Alterationen

betroffen. Wie der immunhistochemische Nachweis von GAD zeigte, waren von den Veränderungen überwiegend GABA-erge Neuronen betroffen.

Die vielfältigen, den Bewegungsablauf, die Haltungs- und Stellreaktionen und die Kopfnervenfunktionen betreffenden neurologischen Symptome, die sich im Verlauf der Erkrankung korrespondierend zu den genannten morphologischen Veränderungen entwickelten (vgl. auch S.56), entsprechen weitgehend den beschriebenen Ausfallserscheinungen, wie sie von der Schädigung bestimmter Kleinhirnareale bekannt sind.

Die bei der *Ipomoea-fistulosa*-Vergiftung der Ziege auftretenden Krankheitserscheinungen sind somit sehr wahrscheinlich überwiegend auf eine Schädigung des GABA-ergen neuronalen Netzwerkes im Kleinhirn zurückzuführen. Auch bei anderen lysosomalen Speicherkrankheiten wird der Entstehung von Sphäroiden in diesen Neuronen eine Schlüsselrolle in der Pathogenese der zerebralen Dysfunktion zugeschrieben (**WALKLEY et al., 1991; WALKLEY, 1998**).

Die Frage, ob in der Pathogenese der *Ipomoea fistulosa*-Vergiftung auch durch die Inhibierung der Golgi- $\alpha$ -Mannosidase II und durch Calystegin induzierte Schädigungen eine Rolle spielen, kann aufgrund der vorliegenden Untersuchungsergebnisse nicht klar beantwortet werden. Die Tatsache, daß die beobachteten klinischen Symptome und besonders das morphologische Schädigungsmuster dem Bild der genetischen  $\alpha$ -Mannosidose sehr ähnlich sind, bei der nur ein Defekt der lysosomalen  $\alpha$ -Mannosidase vorliegt, spricht aber eher dafür, daß solche Wirkungen, wenn überhaupt, nur marginal von Bedeutung sein dürften.

## 5. ZUSAMMENFASSUNG

1. In der Literaturübersicht wird der gegenwärtige Kenntnisstand über die spontane und experimentelle Vergiftung von Wiederkäuern mit *Ipomoea fistulosa*, die im Nordosten Brasiliens unter den Namen „Canudo“ und „Mata cabra“ bekannt ist, und mit *Ipomoea carnea* in Afrika und Asien dargestellt. Die Toxine dieser Pflanzen, Swainsonin und Calystegin B<sub>2</sub> und C<sub>1</sub>, und ihr Wirkungsmechanismus werden erläutert. Weiterhin wird eine Übersicht über lysosomale Speicherkrankheiten im allgemeinen, sowie über das Vorkommen bei Wiederkäuern gegeben.
2. Die eigenen Untersuchungen befaßten sich mit spontan erkrankten Ziegen und einer experimentell induzierten Vergiftung bei dieser Tierart. Die Untersuchung der spontanen Erkrankung erfolgte an 23 Ziegen aus den im Nordosten Brasiliens gelegenen Gemeinden Petrolina/Pernambuco und Juazeiro/ Bahia sowie einer Ziege aus Itaguaí/Rio de Janeiro. Drei der Tiere wurden obduziert, die übrigen nur klinisch untersucht. Experimentell wurde eine Vergiftung bei 12 adulten Ziegen durch Verfütterung von *Ipomoea fistulosa* allein und mit Anteilen von 50% und 25% an der täglichen Futterration induziert. Die aufgenommene Menge an *Ipomoea fistulosa* variierte zwischen 5,2 und 14,9 g Trockenmasse/kg KM/Tag. Zwei Ziegen, die nur mit Gras gefüttert wurden, dienten als Kontrollen für die klinischen und morphologischen Untersuchungen. Elf Ziegen wurden nach einer Versuchsdauer zwischen 20 und 105 Tagen euthanasiert. Eine Ziege starb spontan nach einer Versuchsdauer von 83 Tagen.
3. Alle Tiere wurden unmittelbar nach dem Tod obduziert. Für die histologischen, immunhistologischen und lektinhistochemischen Untersuchungen entnommene Proben fast aller Organe wurden in gepuffertem Formalin fixiert und in Paraffin eingebettet oder für Gefrierschnitte verwendet. Neben einer Vielzahl histologischer Färbungen wurden immunhistologische Untersuchungen zum Nachweis von

Neurofilament, saurem Gliafaserprotein und Glutaminsäuredecarboxylase (GAD) durchgeführt. Die lektin histochemischen Untersuchungen erfolgten mit einem Panel von zehn biotinylierten Lektinen. Proben für die elektronenmikroskopischen Untersuchungen wurden in Glutaraldehyd immersionsfixiert und in Epon eingebettet. Untersuchungen zur Topographie der Hirnveränderungen erfolgten an Coronarschnitten beider Hirnhälften in 16 Schnittebenen.

4. Das klinische Bild der spontan erkrankten Ziegen war durch Abmagerung, bilaterale symmetrische Ataxie, Paresen und abnorme Stellreaktionen mit Muskelhypertonie gekennzeichnet. Bei Tieren mit geringgradigen Störungen erwies sich die „Aufsteh-Prüfung“ als ein diagnostisch wichtiges Merkmal. Hierbei zeigten die Tiere nach Verbringen in die Seitenlage beim Versuch wieder aufzustehen deutliche Koordinationsstörungen.
5. Alle mit *Ipomoea fistulosa* gefütterten Ziegen entwickelten neurologische Krankheitserscheinungen und in späteren Stadien Abmagerung. Die neurologischen Symptome ähnelten denjenigen bei spontaner Vergiftung. Alle Tiere zeigten Verhaltens- und Bewußtseinsstörungen, sowie Anomalien des Bewegungsablaufes und der Haltungs- und Stellreaktionen. Störungen der spinalen Reflexe und der Kopfnervenfunktionen waren nicht regelmäßig vorhanden. Die ersten Krankheitssymptome wurden, unabhängig von dem Anteil an *Ipomoea fistulosa* im Futter, zwischen dem 22. und 42. Versuchstag beobachtet.
6. Sowohl bei spontaner als auch bei experimentell induzierter Erkrankung konnten bei der Sektion außer einer Abmagerung und einer inkonstanten Anämie keine besonderen Befunde erhoben werden.
7. Die histopathologischen Veränderungen, besonders im Gehirn, waren bei spontanen und experimentellen Vergiftungen qualitativ weitgehend identisch.

8. Der auffälligste histopathologische Befund war eine zytoplasmatische Vakuolisierung in Neuronen des zentralen und autonomen Nervensystems, weniger deutlich auch in Astrozyten, Oligodendrozyten und Schwannzellen peripherer Nerven. Sie fand sich auch in Parenchymzellen von Organen, vor allem in Azinuszellen des Pankreas, Hepatozyten, Kupfferzellen, Follikelepithelien der Schilddrüse, Makrophagen des lymphatischen Gewebes und im Keimepithel des Hodens. Besonders deutlich konnten die Vakuolen lektin histochemisch mit Con-A und WGA dargestellt werden. Ultrastrukturell waren die 0,3 bis 3,3  $\mu\text{m}$  großen lysosomalen Vakuolen von einer einschichtigen Membran umgeben und bis auf gelegentlich nachweisbare Membranfragmente, Vesikel, granulär-retikuläre Strukturen oder amorphe, dichte Substanzen und osmiophiles Material elektronenoptisch leer.
9. Im Gehirn wurden darüber hinaus eine axonale Degeneration mit Sphäroidbildung, Ganglienzellnekrosen und eine Astroglieose festgestellt. Der immunhistochemische Nachweis von GAD in der Mehrzahl der Sphäroide ergab, daß von der axonalen Dystrophie vor allem GABA-erge Neuronen betroffen waren. Ultrastrukturell enthielten die Sphäroide vor allem dichte Körperchen, daneben Mitochondrien, Mikrotubuli und Neurofilamente, während lysosomale Vakuolen nur selten vorhanden waren.
10. Während die neuronale Vakuolisierung disseminiert in allen Hirnregionen auftrat, fanden sich Sphäroide vor allem im Kleinhirn, besonders im Kleinhirnwurm und in den Kleinhirnkernen. Daneben waren sie im Nucleus vestibularis lateralis, im Nucleus cuneatus lateralis und im Nucleus olivaris der Medulla oblongata, sowie in der Substantia nigra des Mittelhirns und im Globus pallidus deutlich erkennbar. Korrespondierend hierzu fand sich in diesen Gebieten auch eine deutliche reaktive Astroglieose, welche in der Kleinhirnrinde besonders die Bergmann-Glia betraf. Ultrastrukturell lag eine

deutliche Vermehrung gliofilamentreicher Fortsätze vor. Die Astrozytenperikarya und besonders ihre Fußfortsätze waren oft ödematisiert.

11. Die zytoplasmatische Vakuolisierung war 20 Tage nach Versuchsbeginn in Purkinjezellen des Kleinhirnes und Neuronen des Thalamus sowie in Azinuszellen des Pankreas, in Follikelepithelien der Schilddrüse und in Makrophagen der Lymphknotensinus erstmals nachweisbar. Ab dem 40. Versuchstag war sie in allen Hirnregionen erkennbar. Ab diesem Zeitpunkt waren auch axonale Sphäroide ausgeprägt nachweisbar, während ein Verlust an Purkinjezellen und eine Astrogliose erst bei Ziegen nach mehr als 50-tägiger Versuchsdauer massiver ausgeprägt waren.
12. Die Vakuolenmembranen von neuronalen und extraneuronalen Zellen wurden durch die Lektine Con-A und WGA sehr stark markiert. LCA und S-WGA reagierten selektiv mit Vakuolenmembranen in neuronalen Vakuolen. Das lektinhistochemische Muster zeigt, daß die identifizierten nicht reduzierten Reste von  $\alpha$ -Man,  $\alpha$ -Glc,  $\beta$ 1-4GlcNAc und NeuNAc oder ihre Sequenz zu den *N*-glykosidisch gebundenen Oligosaccharideinheiten vom mannosereichen, hybriden und komplexen Typ gehören.
13. Der Vergleich der Kinetik der histopathologischen Veränderungen mit der des neurologischen Symptomenkomplexes bei der experimentellen Vergiftung ergab, daß letzterer erst in vollem Umfang manifest wurde, wenn neuropathologisch ausgeprägte degenerative Veränderungen in Gestalt von Sphäroidbildung und Ganglienzellnekrosen bzw. Ganglienzellschwund in der Purkinjezellschicht vorhanden waren.
14. Die Untersuchungen zeigen, daß das nach Verfütterung von *Ipomoea fistulosa* experimentell induzierte Krankheitsbild sich nicht von demjenigen der spontanen Vergiftung unterscheidet. Die Aufnahme von *Ipomoea fistulosa* löst eine systemische Glykoproteinspeicherkrankheit aus, die mit

einer lysosomalen Speicherung von Oligosacchariden des mannosereichen, hybriden und komplexen Typs einhergeht. Diese beruht auf der Inhibierung der lysosomalen  $\alpha$ -Mannosidase durch das Alkaloid Swainsonin. Im Gehirn entwickeln sich darüberhinaus degenerative Veränderungen vor allem in GABA-ergen Neuronen des Kleinhirns, welche für die auf eine zerebelläre Dysfunktion hinweisenden Krankheitserscheinungen verantwortlich sind.

## 5 SUMMARY

1. In the literature section, the actual knowledge about the spontaneous and experimental intoxication of ruminants with *Ipomoea fistulosa*, known as „Canudo“ and „Mata cabra“ in the Northeast of Brazil, and related to *Ipomoea carnea* in Africa and Asia, is reviewed. The toxins identified from these plants, Swainsonine and Calystegine B<sub>2</sub> and C<sub>1</sub>, and their mechanism of action are described. Furthermore, an overview of lysosomal storage diseases in general and with special emphasis on ruminants is given.
2. The present investigations included studies on spontaneously and experimentally occurring intoxications in goats. 23 goats with spontaneous disease originating from Petrolina/Pernambuco and Juazeiro/Bahia in Northeast Brazil as well as one animal from Itaguai/Rio de Janeiro were included in the study. Three goats from this group were necropsied and the remaining animals were studied clinically only. For the experimental study, 12 adult goats were intoxicated by feeding them *Ipomoea fistulosa* alone or replacing 50% or 25% of the daily diet by this plant. The ingested amount of *Ipomoea fistulosa* varied between 5,2 and 14,9g dry matter/kg body weight/day. Two goats, that were fed with grass only, served as controls for the clinical and morphological investigations. Eleven goats were euthanized after 20 and 105 days. One goat died spontaneously after 83 days.
3. All animals were necropsied immediately after death. For the histological, immunohistological and lectin-histochemical studies specimen from almost all organs were fixed in buffered formalin, embedded in paraffin and used for frozen sections. Besides a large variety of histological staining techniques, immunohistological studies for the detection of neurofilament, glial fibrillary acidic protein and glutamic acid decarboxylase (GAD) were performed. For the lectin-histochemical experiments, a panel of ten biotinylated lectins was used. In addition, tissues were immersion fixed in

glutaraldehyde and embedded in Epon for the electron microscopical studies. To specify the topography of the brain lesions, 16 coronal sections of both hemispheres were used.

4. Clinically, spontaneously intoxicated goats showed emaciation, bilateral symmetrical ataxia, paresis and abnormal postural reactions with muscle hypertonia. In animals with minor changes, the „stand up-test“ proved to be of diagnostic value. Accordingly, animals that were put into a lateral position showed striking coordination problems.
5. All goats fed with *Ipomoea fistulosa* developed neurological signs and, in later stages, emaciation. The neurological symptoms were comparable to those observed in the spontaneous intoxication. All animals showed disorders of behaviour and consciousness as well as anomalies of the gait, stand and postural reactions. Changes in the spinal reflexes and in the cranial nerves functions were not always present. The first symptoms were, independent of the amount of *Ipomoea fistulosa* fed, observed between day 22 and 42.
6. Emaciation and in some cases anemia were the only macroscopical changes observed in spontaneous as well as in experimental cases.
7. The histopathological changes, especially in the brain, were almost identical in spontaneously and experimentally intoxicated animals.
8. The most prominent histopathological lesion was a cytoplasmic vacuolation in neurons of the central and the autonomous nervous system. It was less pronounced in astrocytes, oligodendrocytes and Schwann cells of the peripheral nerves. Parenchymal cells of various organs including pancreatic acinar cells, hepatocytes, Kupffer cells, follicular epithelial cells of the thyroid gland, macrophages of the lymphatic tissues and the testicular

tissue showed similar changes. For the lectin-histochemical detection of the vacuoles the lectins Con-A and WGA yielded the best results. Ultrastructurally, the 0,3 to 3,3  $\mu\text{m}$  large lysosomal vacuoles were surrounded by a single-layered membrane and were empty besides occasionally observed membrane fragments, vesicles, granular-reticular structures or amorphous, dense substances and osmiophilic material.

9. Furthermore, in the brain, an axonal degeneration with formation of spheroids, ganglial cell necrosis and an astrogliosis were observed. The immunohistochemical detection of GAD in the majority of the spheroids suggested that mainly GABAergic neurons were affected by the axonal dystrophy. Ultrastructurally, the spheroids contained mainly dense bodies, besides mitochondria, microtubuli and neurofilaments, while lysosomal vacuoles were found only rarely.
10. While the neuronal vacuolation was disseminated in all brain regions, the spheroids predominated in the cerebellum, especially in the vermis and in the cerebellar nuclei. In addition, they were prominent in the nucleus vestibularis lateralis, in the nucleus cuneatus lateralis and in the nucleus olivaris of the medulla oblongata, as well as in the substantia nigra of the midbrain and the globus pallidus. Correspondingly, a prominent reactive astrogliosis especially affecting the Bergmann glia of the cerebellar cortex was observed. Ultrastructurally, a proliferation of glial filament-rich processes was found. The astrocytic perikarya and processes were often edematous.
11. The cytoplasmic vacuolation was first observed 20 days after the onset of the experiment in cerebellar Purkinje cells and thalamic neurons as well as in acinar pancreatic cells, follicular epithelial cells of the thyroid gland and in macrophages of the lymphatic sinuses. After 40 days the vacuolation was found in all brain regions. At the same time, the spheroids appeared, while

a massive loss of Purkinje cells and astrogliosis were not found in goats before 50 days after the onset of the experiment.

12. The membranes of the vacuoles of neuronal and extraneuronal cells stained strongly positive with the lectins Con-A and WGA. LCA and S-WGA reacted selectively with membranes in neuronal vacuols. The lectin-histochemical pattern revealed, that the identified, non-reduced rest of  $\alpha$ -Man,  $\alpha$ -Glc,  $\beta$ 1-4GlcNAc and NeuNAc or their sequence are part of the *N*-glycosidically linked oligosaccharides from the mannose-rich, hybrid and complex type.
13. The comparison of the kinetics of the histopathological changes and the neurological symptoms in the experimental intoxication revealed, that neurological signs did not become evident before the occurrence of prominent neurodegenerative changes including spheroid formation and necrosis and loss of ganglia in the Purkinje cell layer.
14. The investigations show that after feeding of *Ipomoea fistulosa* experimentally induced disease is identical to the spontaneous intoxication. The up-take of *Ipomoea fistulosa* induces a glycoprotein storage disease, that is accompanied by the lysosomal storage of oligosaccharides of the mannose-rich, hybrid and complex type. This is based on the inhibition of the lysosomal  $\alpha$ -mannosidase by the alkaloid swainsonin. Furthermore, in the brain, degenerative changes develop, affecting mostly GABAergic cerebellar neurons, owing to the clinically observed cerebellar dysfunction.

**6 ABBILDUNGEN**

Im Original und in der elektronischen Version (<http://www.uni-giessen.de/ub/geb/>) sind die Abb. 8-13; 20-28 und 39-62 farblich dargestellt. In den gedruckten Exemplaren (DIN A5) sind alle Vergrößerungsangaben um 32% zu verringern.

**Abb. 9: *Ipomoea fistulosa* in ihrem natürlichen Habitat**

- a: *Ipomoea fistulosa* in Blüte.
- b: Dichtes kahles Buschwerk von *Ipomoea fistulosa* in einem ausgetrockneten See.



**Abb. 10: Klinische Symptome bei Ziegen mit spontaner und experimenteller Vergiftung durch *Ipomoea fistulosa***

- a: Unfähigkeit aus der Seitenlage aufzustehen („Aufstehprüfung“)  
Ziege 5119, spontane Vergiftung.
- b: Parese der Hintergliedmaßen  
Ziege 5123, spontane Vergiftung.
- c: Hypermetrie der Vordergliedmaßen  
Ziege 5076, 56. Versuchstag.
- d: Starre aller Gliedmaßen bei Druck auf die Klauensohle  
Ziege 5069, 70. Versuchstag.

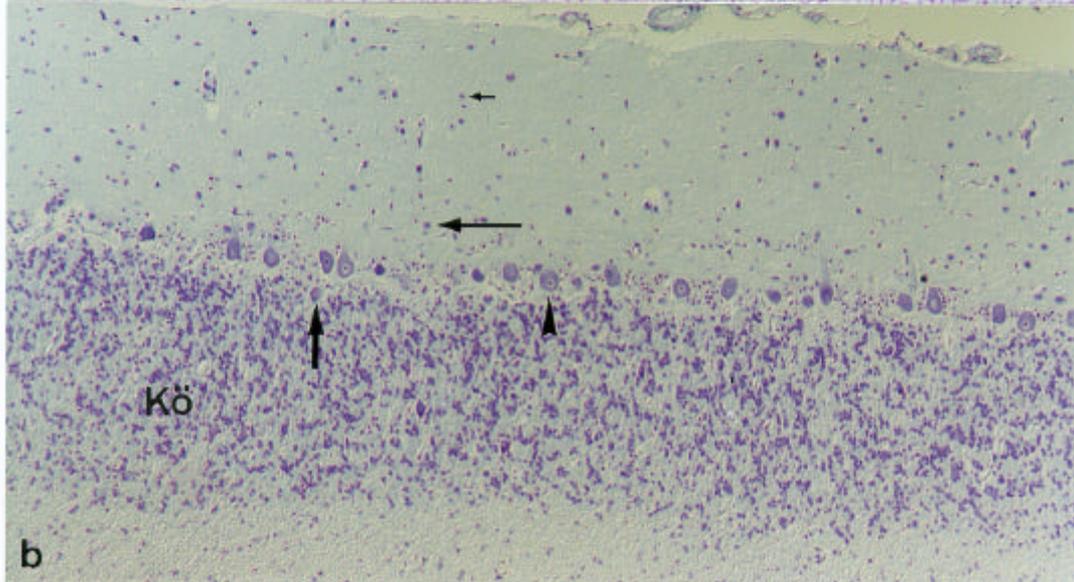
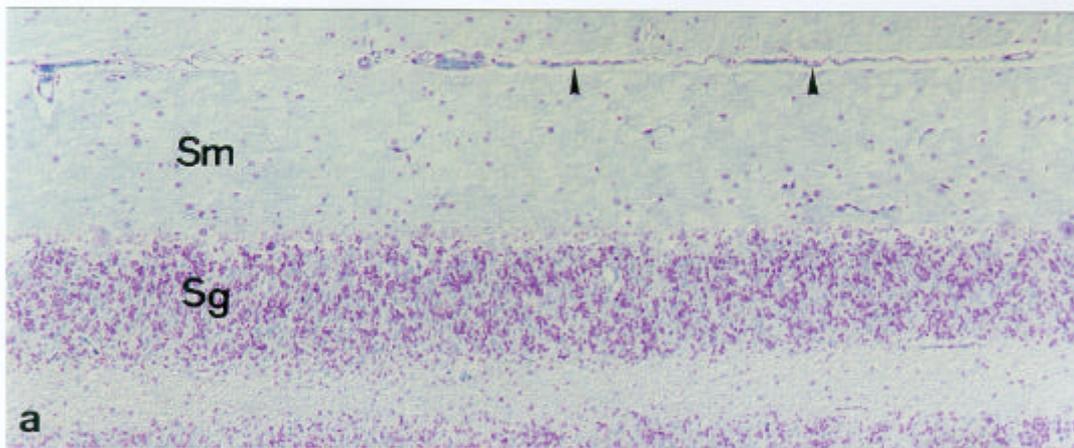
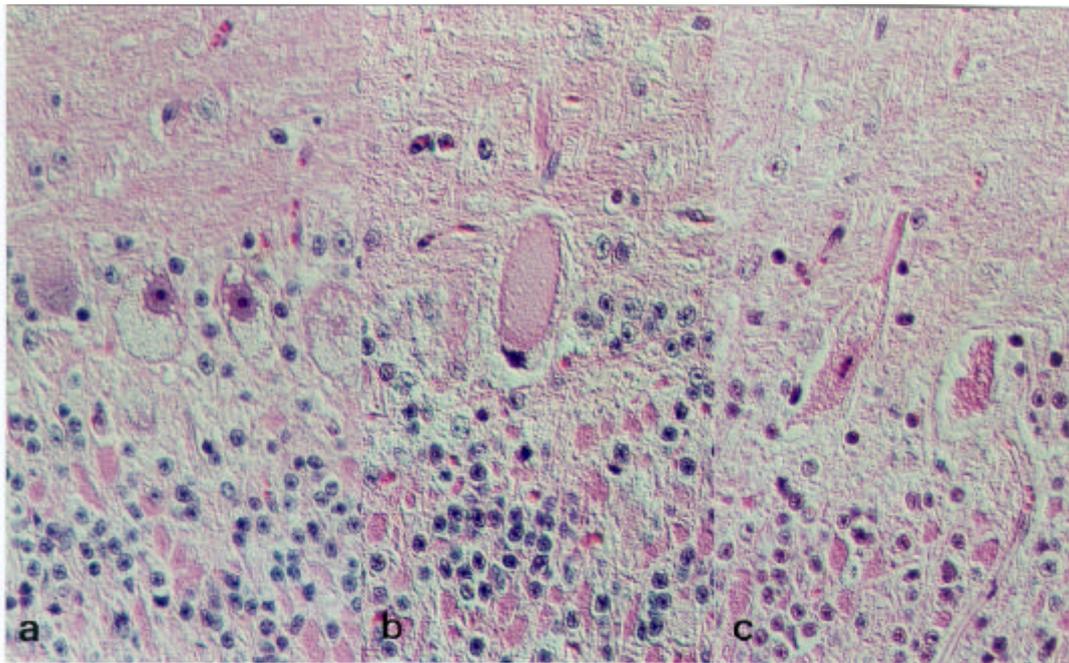


**Abb. 20: Veränderungen der Purkinjezellen der Kleinhirnrinde**

- a: Vakuolisierung im Perikaryon einer Purkinjezelle in der Declive  
Ziege 5080, 40. Versuchstag  
H.E., Nomarski-Beleuchtung, 420 x.
- b: Chromatolyse einer Purkinjezelle im Culmen  
Ziege 5070, 105. Versuchstag  
H.E., Nomarski-Beleuchtung, 420 x.
- c: Nekrotische Purkinjezelle in der Declive mit Eosinophilie des Zytoplasmas  
und pyknotischem Zellkern  
Ziege 5070, 105. Versuchstag  
H.E., Nomarski-Beleuchtung, 420 x.

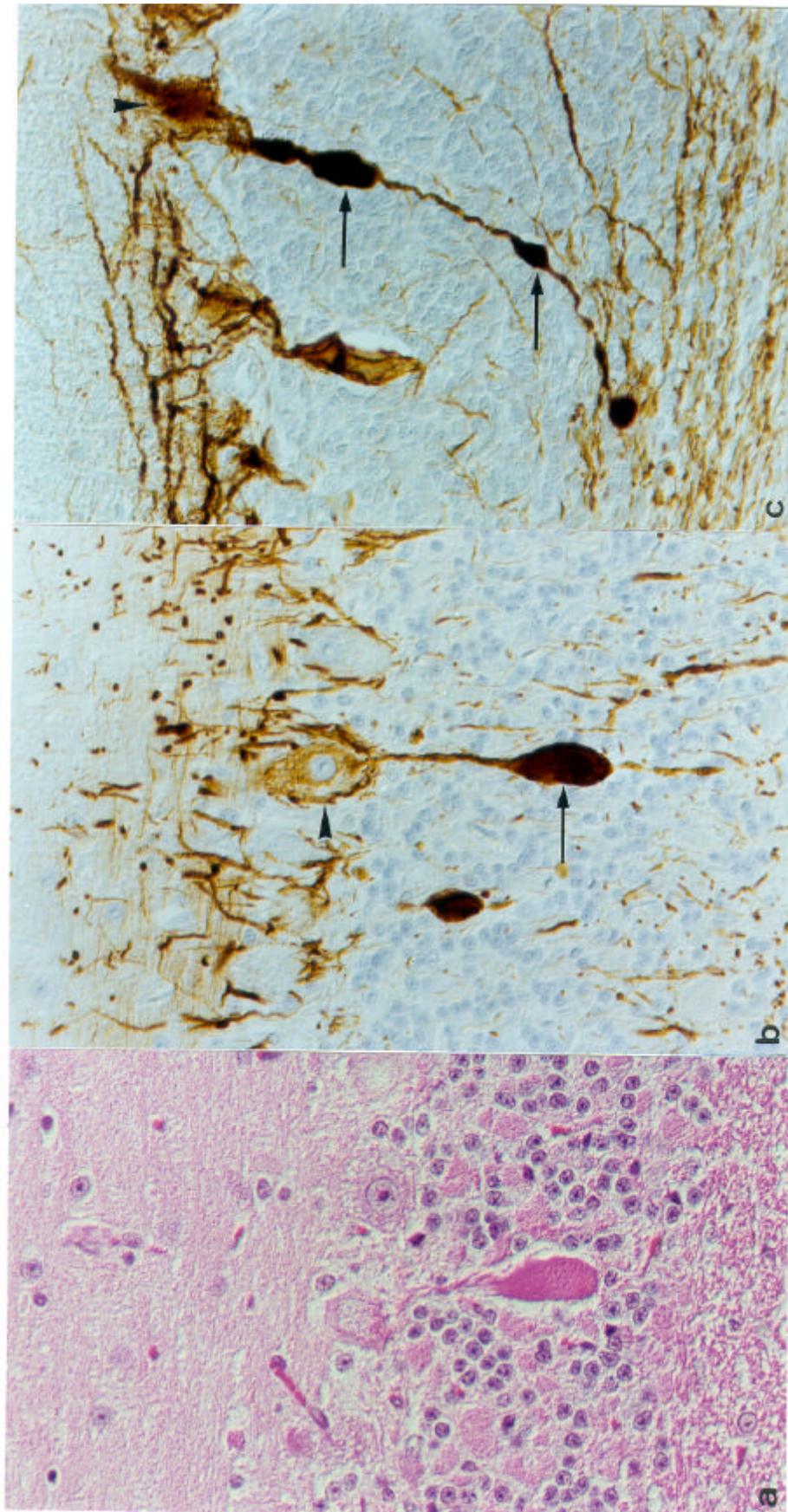
**Abb. 21:**

- a: Zellverlust und Verschmälerung im Stratum moleculare (Sm).  
Purkinjezellen sind nicht mehr nachweisbar. Das Stratum granulosum (Sg)  
ist durch den Verlust von vornehmlich Golgizellen ebenfalls verschmälert.  
Keile: Leptomeninx  
Ziege 5123, Declive des Kleinhirnwurmes, spontane Vergiftung  
Kresylviolett, Nomarski-Beleuchtung, 104 x.
- b: Declive eines Kontrolltieres. Kleiner Pfeil: Sternzelle; großer Pfeil:  
Korbzelle; Keil: Purkinjezelle; dicker Pfeil: Golgizelle; Kö: Körnerzellen  
Ziege 5069, Kresylviolett, Nomarski-Beleuchtung, 104 x.



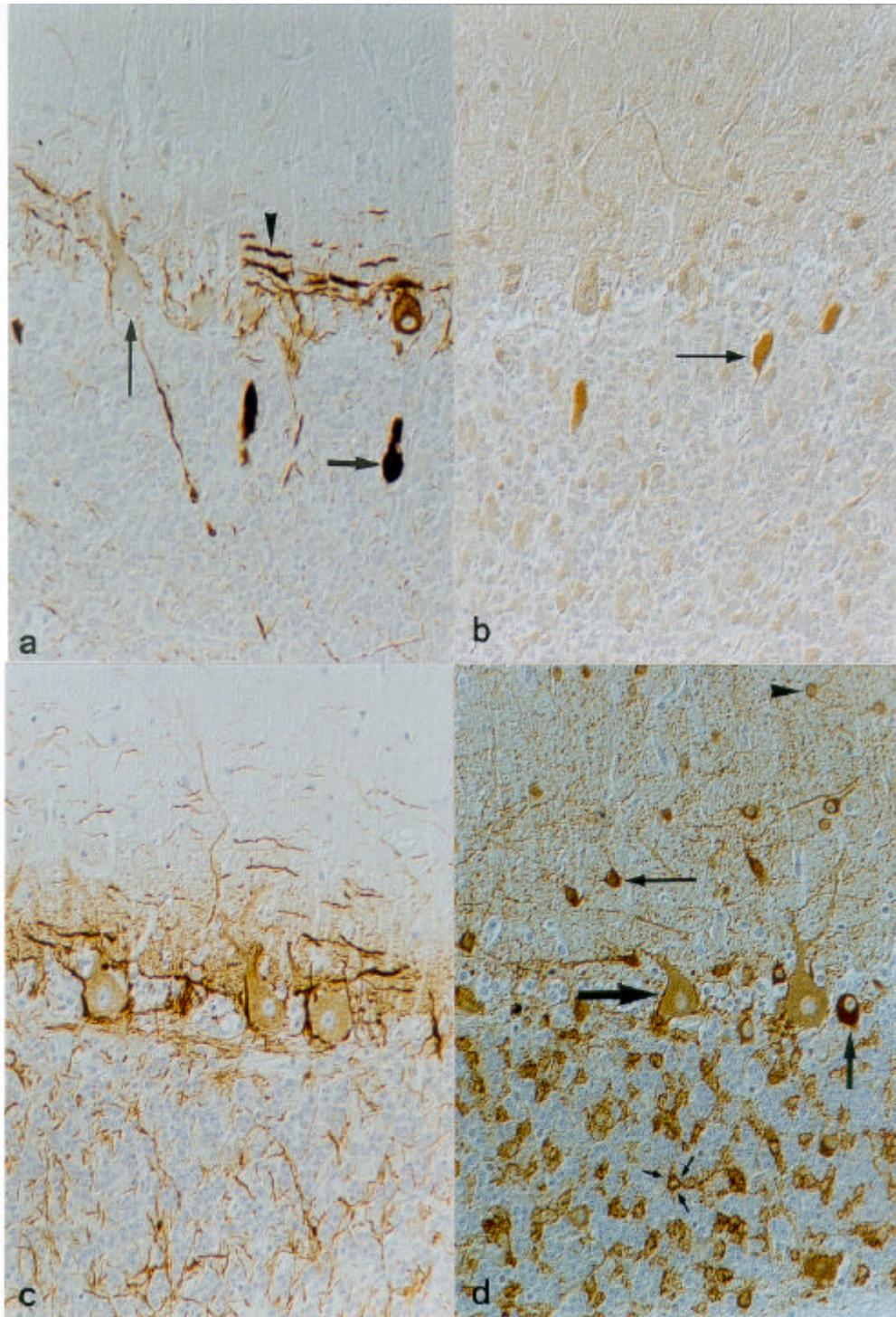
**Abb. 22: Degenerative Veränderungen von Purkinjellaxonen mit Bildung von Sphäroiden, die in den hier dargestellten Längsschnitten das Bild sogenannter "Torpedos" zeigen**

- a: Coronarschnitt des Culmen  
Ziege 5079, 61. Versuchstag  
H.E., Nomarski-Beleuchtung, 360 x.
- b: Coronarschnitt der Declive. Pfeil: immunhistochemischer Nachweis von Neurofilament in Sphäroiden des proximalen Axonabschnittes. Keil: Purkinjellperikaryon  
Ziege 5070, 105. Versuchstag  
ABC-Technik, Nomarski-Beleuchtung, 360 x.
- c: Sagittalschnitt der Kleinhirnpyramide. Pfeile: immunhistochemischer Nachweis von Neurofilament bei segmentaler Sphäroidbildung im proximalen Abschnitt eines Purkinjellaxons. Keil: immunreaktives Purkinjellperikaryon  
Ziege 5123, spontane Vergiftung  
ABC-Technik, Nomarski-Beleuchtung, 360 x.



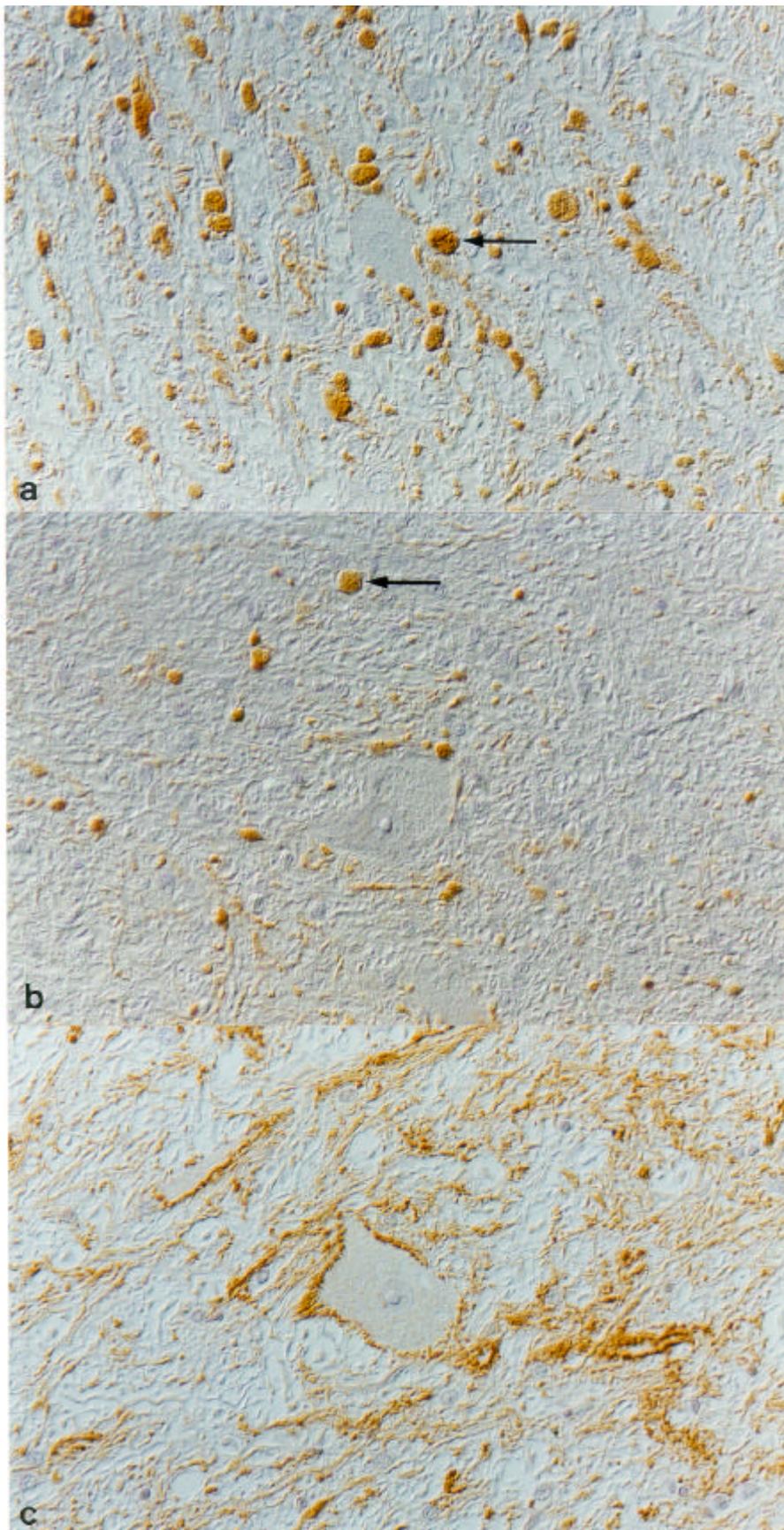
**Abb. 23: Immunhistochemischer Nachweis von NF und GAD in einer sagittalen Schnittebene der Kleinhirnpyramide**

- a: Spontane Vergiftung. Deutlich reduzierte NF-Expression und Bildung axonaler Sphäroide (dicker Pfeil). Verdickung der Korbzellaxone (Keil) bei gleichzeitigem Fehlen der terminalen kollateralen Ramifikationen von Korbzellaxonen (dünner Pfeil). NF-positives Perikaryon  
Ziege 5123, spontane Vergiftung  
NF, ABC-Technik, Nomarski-Beleuchtung, 210 x.
- b: Spontane Vergiftung. Die GABA-ergen Neuronen weisen eine nur schwach positive GAD-Reaktion auf. Axonale Sphäroide (Pfeil) sind mäßig GAD-positiv  
Ziege 5123, spontane Vergiftung  
GAD, ABC-Technik, Nomarski-Beleuchtung, 210 x.
- c, d: Kontrolltier. Zahlreiche NF-positive Axone in verschiedenen Schichten der Kleinhirnrinde (c). GABA-erge Neuronen weisen immunhistologisch eine starke GAD-Reaktion auf (d). Großer dicker Pfeil: Purkinjezelle; Keil: Sternzelle; großer dünner Pfeil: Korbzelle; kleiner dicker Pfeil: Golgizelle; kleine Pfeile: Glomerulus cerebellosus  
Ziege 5125  
c: NF, d: GAD, ABC-Technik, Nomarski-Beleuchtung, 210 x.



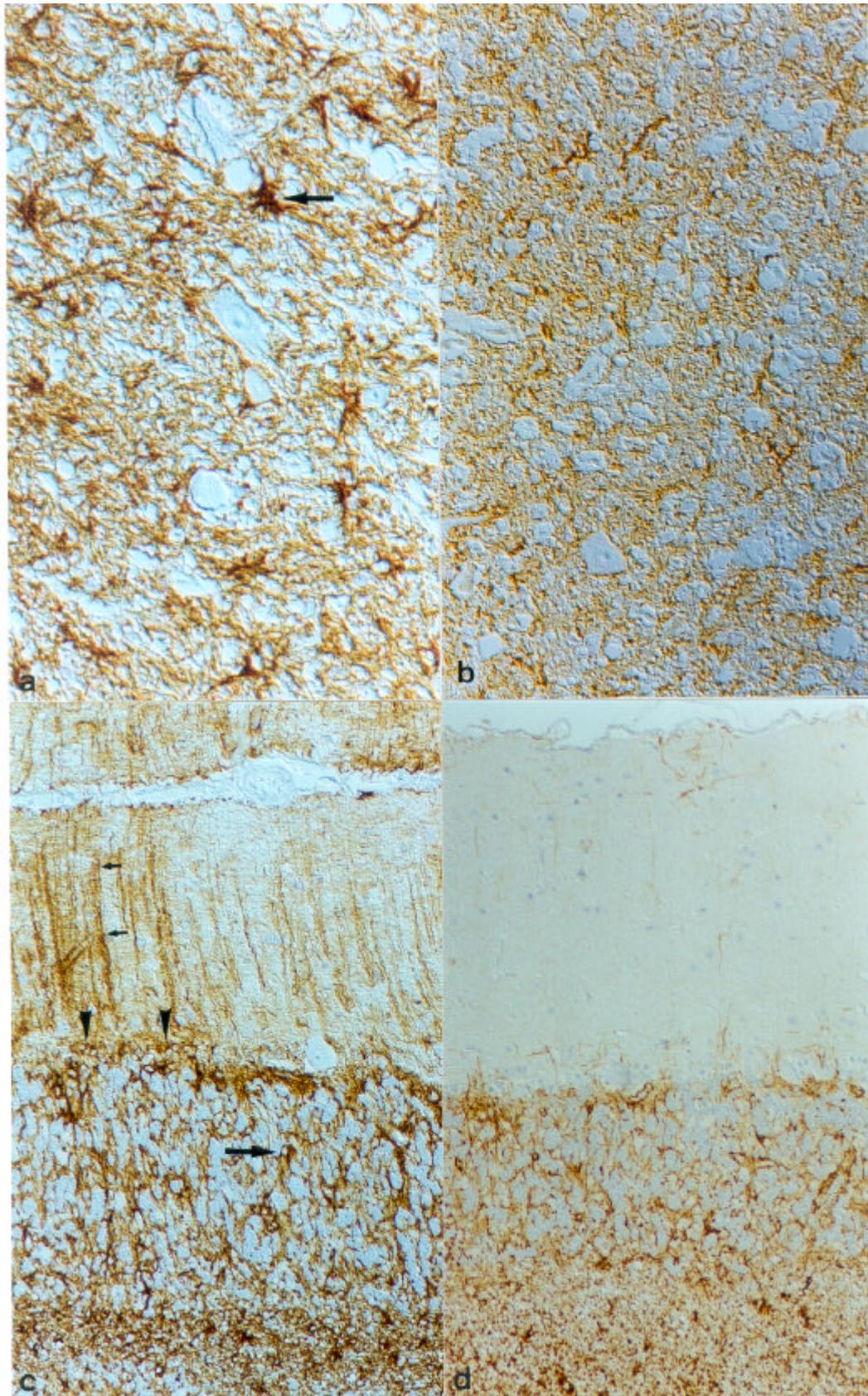
**Abb. 24: Immunhistochemischer Nachweis von GAD zur Darstellung von Fortsätzen und axonalen Sphäroiden GABA-erger Neuronen in Kerngebieten des Kleinhirnes**

- a: Reduktion immunreaktiver Fortsätze und relativ viele axonale Späroide (Pfeil). Um eine große Ganglienzelle unvollständige Corona von GAD-positiven Fortsätzen und Sphäroiden  
Ziege 5080, 40. Versuchstag, Nuc. fastigii  
ABC-Technik, Nomarski-Beleuchtung, 360 x.
- b: Nur noch vereinzelte GAD-positive Axone und wenige immunreaktive Sphäroide (Pfeil). Zwei Sphäroide haben Kontakt mit dem Perikaryon einer großen Ganglienzelle, eine perineuronale Corona aus GAD-positiven Fortsätzen ist nicht erkennbar  
Ziege 5070, 105. Versuchstag, Nuc. interpositus  
ABC-Technik, Nomarski-Beleuchtung, 360 x.
- c. Nuc. fastigii eines Kontrolltieres. Neben zahlreichen GAD-positiven neuronalen Zellfortsätzen ist eine große Ganglienzelle, deren Perikaryon von einer dichten Corona aus GAD-positiven Fortsätzen besteht, die axosomatische synaptische Kontakte mit der Ganglienzelle bilden  
Ziege 5125  
ABC-Technik, Nomarski-Beleuchtung, 360 x.



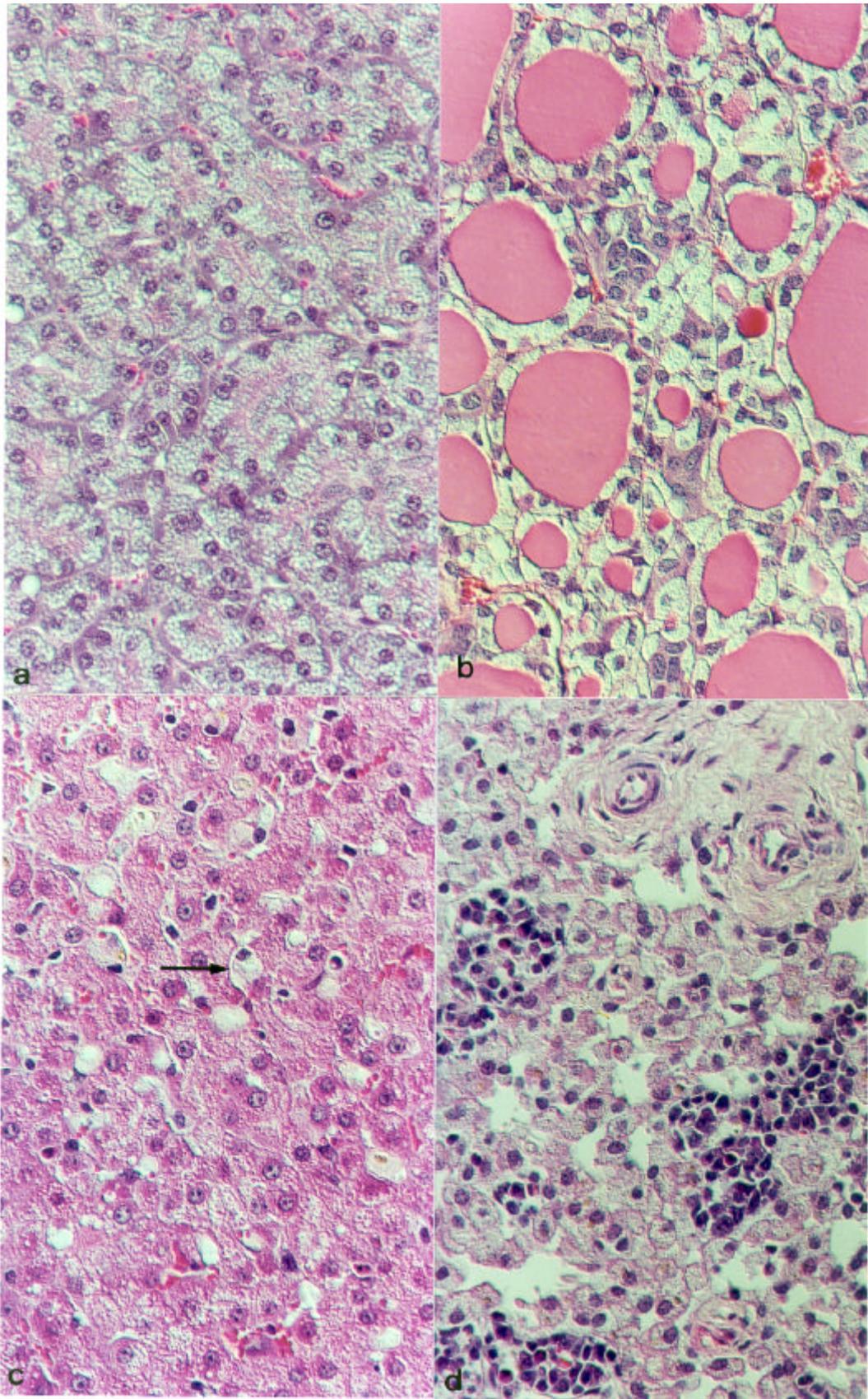
**Abb. 25: Immunhistochemischer Nachweis von GFAP in Astrozyten des Nuc. interpositus und der Declive des Kleinhirnwurmes**

- a: Deutliche Hypertrophie der Astrozyten (Pfeil) mit Vermehrung der Fortsätze  
Ziege 5069, 70. Versuchstag, Nuc. interpositus  
ABC-Technik, Nomarski-Beleuchtung, 360 x.
- b: Astrozyten im Nuc. interpositus eines Kontrolltieres  
Ziege 5125  
ABC-Technik, Nomarski-Beleuchtung, 360 x.
- c: Astrogliose in der Declive. Ausgeprägte Proliferation der Bergmann-Glia im verschmälerten Stratum moleculare (Keile) mit Vermehrung ihrer Fortsätze (kleine Pfeile). Im Stratum granulosum und in der weißen Substanz ist eine deutliche Astrozytenhypertrophie (Pfeil) mit Vermehrung der Fortsätze zu erkennen  
Ziege 5123, spontane Vergiftung  
ABC-Technik, Nomarski-Beleuchtung, 180 x.
- d. Astrozyten in der Declive des Kleinhirnwurmes eines Kontrolltieres  
Ziege 5125  
ABC-Technik, Nomarski-Beleuchtung, 180 x.



**Abb. 26: Zytoplasmatische Vakuolisierung verschiedener Organe**

- a: Diffuse zytoplasmatische Vakuolisierung der Azinuszellen des Pankreas mit deutlicher Reduktion der Zymogengranula  
Ziege 5075, 53. Versuchstag  
H.E., Nomarski-Beleuchtung, 420 x.
- b: Diffuse zytoplasmatische Vakuolisierung der Follikelepithelzellen der Schilddrüse  
Ziege 5079, 61. Versuchstag  
H.E., Nomarski-Beleuchtung, 420 x.
- c: Zytoplasmatische Vakuolisierung der Hepatozyten und Hypertrophie und zytoplasmatische Vakuolisierung der Kupfferzellen (Pfeil), Leber  
Ziege 5070, 105. Versuchstag  
H.E., Nomarski-Beleuchtung, 420 x.
- d: Zytoplasmatische Vakuolisierung in Makrophagen der Marksinus, Lymphknoten  
Ziege 5070, 105. Versuchstag  
H.E., Nomarski-Beleuchtung, 420 x.



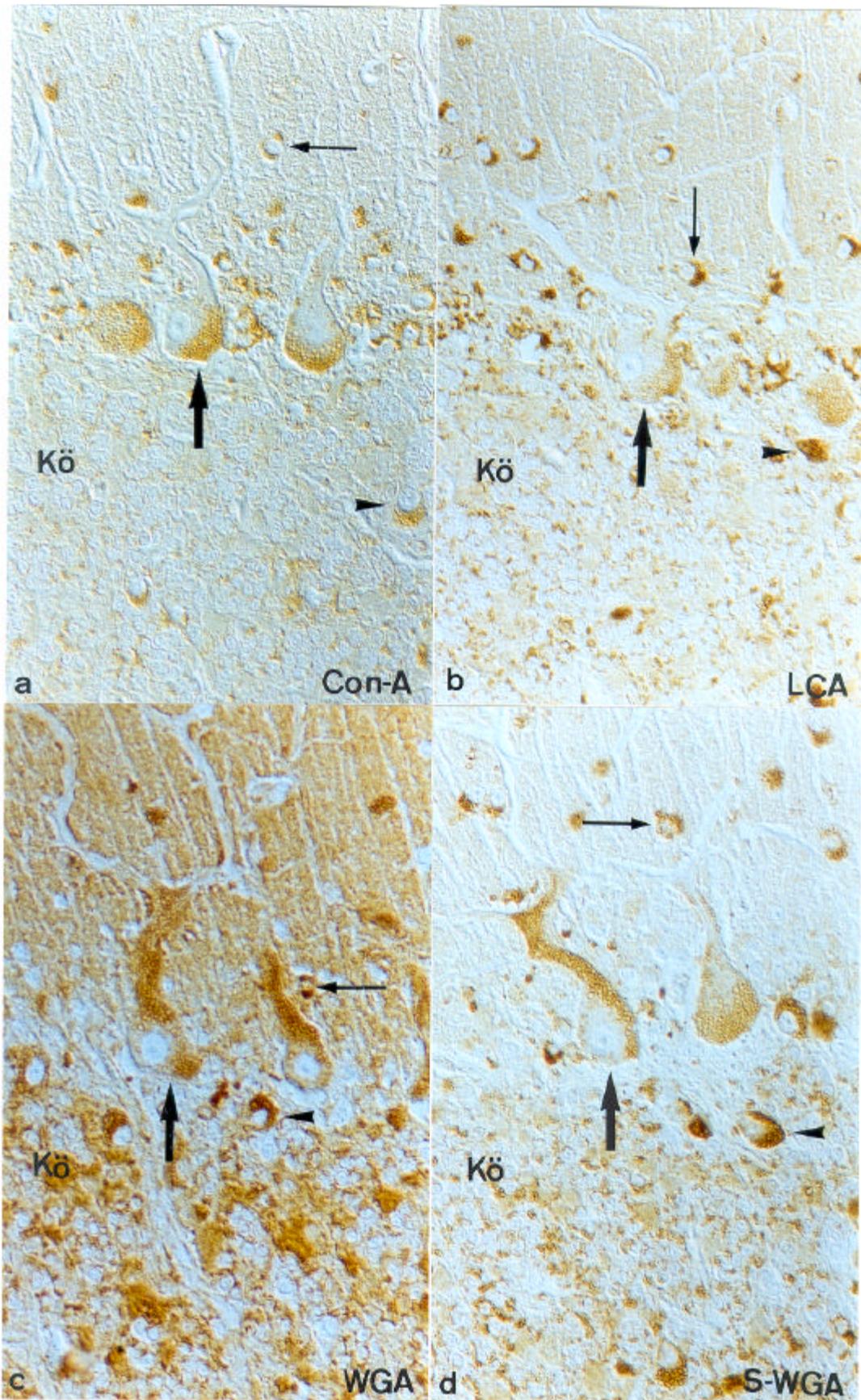
**Abb. 27: Lektin histochemische Nachweise zur Darstellung von Oligosaccharidresten der Vakuolenmembranen in der Pyramide des Kleinhirnwurmes**

Positive Reaktion in Vakuolenmembranen von Korbzellen (dünner Pfeil), Purkinjezellen (dicker Pfeil), Golgizellen (Keil) und Körnerzellen (Kö)

a: Con-A; b: LCA; c: WGA; d: S-WGA

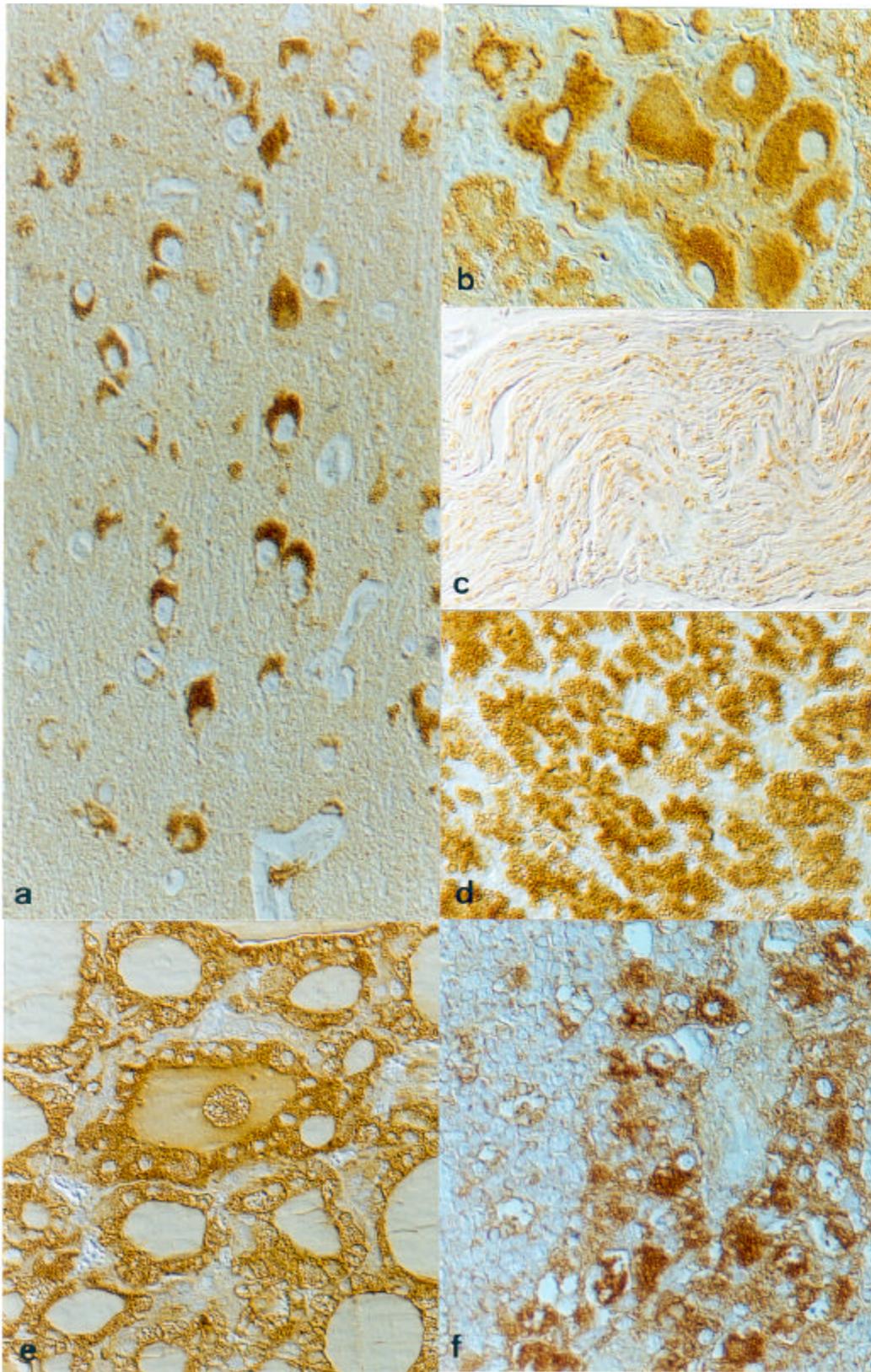
Ziege 5075, 53. Versuchstag

ABC-Technik, Nomarski-Beleuchtung, 360 x.



**Abb. 28: Lektin histochemische Nachweise zur Darstellung von Oligosaccharidresten der Vakuolenmembranen in verschiedenen Organen**

- a: Hochgradig vakuolisierte Neuronen des motorischen Cortex mit ausgeprägter WGA-Reaktion der Vakuolenmembranen  
Ziege 5072, 77. Versuchstag
  - b: Mäßig vakuolisierte Ganglienzellen eines intramurales autonomes Ganglion des Pankreas mit Con-A-Reaktion der Vakuolenmembranen  
Ziege 5074, 64. Versuchstag
  - c: Geringgradig vakuolisierte Schwannzellen des Nervus trigeminus mit S-WGA-Reaktion der Vakuolenmembranen  
Ziege 5079, 61. Versuchstag
  - d: Hochgradig vakuolisierte Azinusepithelzellen des Pankreas mit starker WGA-Reaktion  
Ziege 5074, 64. Versuchstag
  - e: Hochgradig vakuolisierte Follikelepithelzellen der Schilddrüse mit Con-A-Reaktion  
Ziege 5079, 61. Versuchstag
  - f: Hochgradig vakuolisierte Makrophagen im Lymphknoten mit Con-A-Reaktion  
Ziege 5070, 105. Versuchstag
- a - f: ABC-Technik, Nomarski-Beleuchtung, 420 x.



**Abb. 29: Elektronenmikroskopische Darstellung einer Azinuszelle des Pankreas einer experimentell vergifteten Ziege im Vergleich mit der eines gesunden Tieres**

a: Multiple optisch leere Vakuolen (V). Nur einige Vakuolen enthalten Membranreste (kleiner Pfeil). Die Bildung von elektronendichten Sekretgranula erscheint deutlich reduziert (dünner Pfeil). Kern (N), rauhes endoplasmatisches Retikulum (rER), Golgi-Komplex (G), Mitochondrien (dicker Pfeil), Lamina basalis (kleine Keile) und Azinuslumen (L) ohne auffällige Veränderungen

Inset: Anschnitt einer deutlich einschichtigen Vakuolenmembran (Keil), mit angrenzendem rauhen endoplasmatischen Retikulum

Ziege 5074, 64. Versuchstag

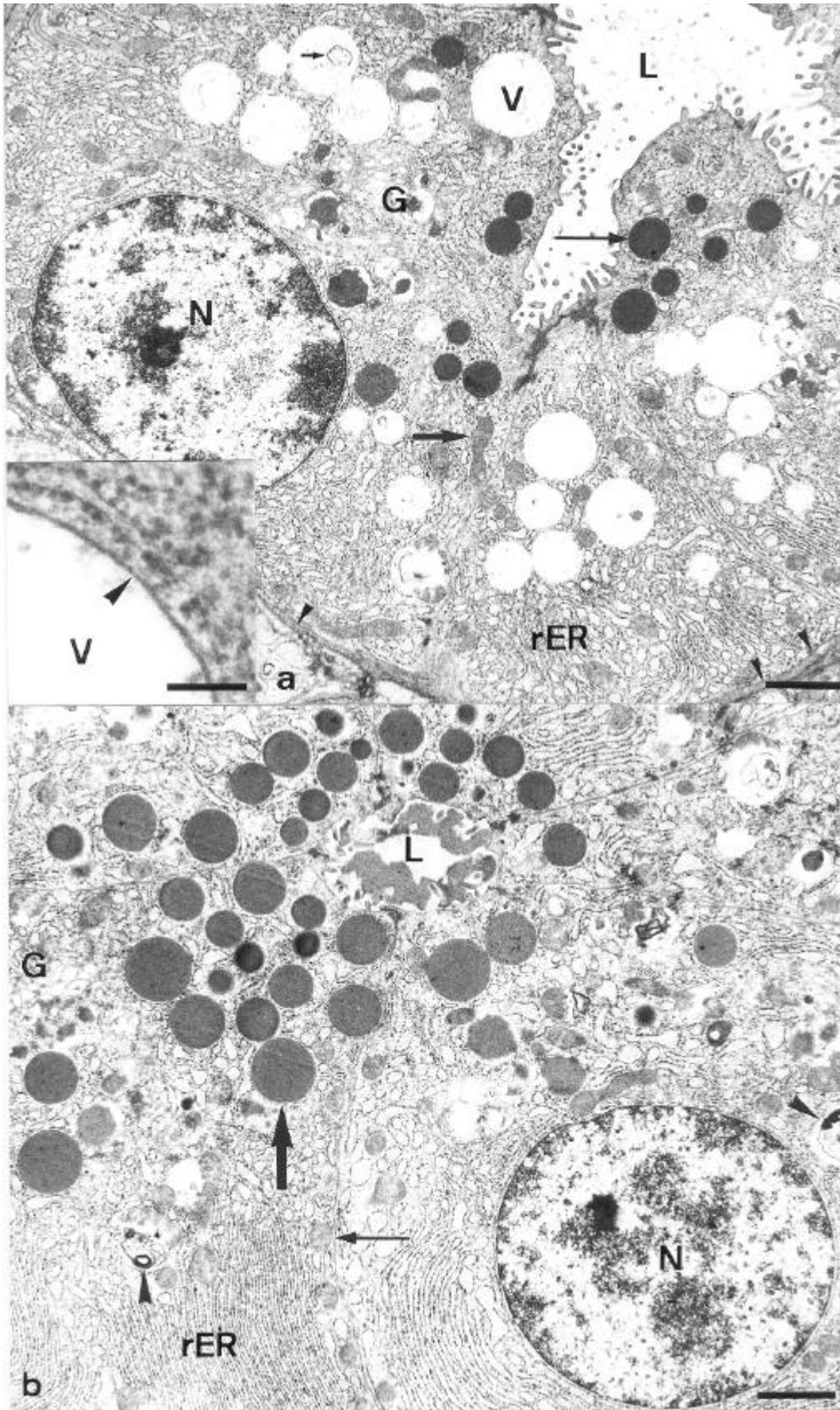
Maßstab = 1,5 µm

Inset-Maßstab = 0,15 µm.

b: Azinuszelle des Pankreas eines gesunden Tieres mit großen Mengen dicht gepacktem rauhen endoplasmatischen Retikulums (rER) und zahlreichen elektronendichten Sekretgranula (dicker Pfeil). Kern (N), Golgi-Komplex (G), Mitochondrien (dünner Pfeil), Residualkörper (Keile) und Azinuslumen (L).

Ziege 5067, Kontrolltier

Maßstab = 1,5 µm.



**Abb. 30:**

Nekrotische Azinuszelle mit Chromatinkondensation, Ödem des rauhen endoplasmatischen Retikulums (rER) und Mitochondrienschwellung (Pfeil). Wahrscheinlich rupturierte zytoplasmatische Vakuolen (Stern). In der Nachbarschaft nicht nekrotische vakuolisierte Azinuszellen.

Ziege 5074, 64. Versuchstag

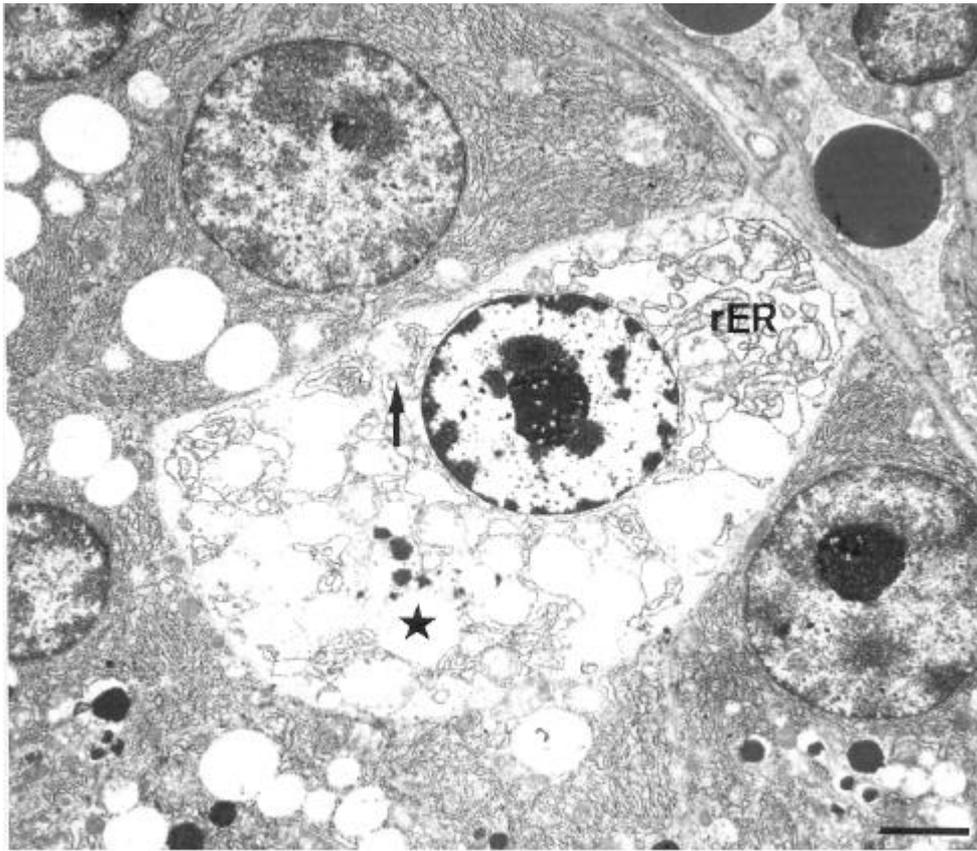
Maßstab = 2,9  $\mu\text{m}$ .

**Abb. 31:**

Deutliche Zytoplasmavakuolen (Pfeile) in einer Azinuszelle (AZ), einem Fibrozyten (F) und einer kapillären Endothelzelle (kE)

Ziege 5074, 64. Versuchstag

Maßstab = 1,8  $\mu\text{m}$ .

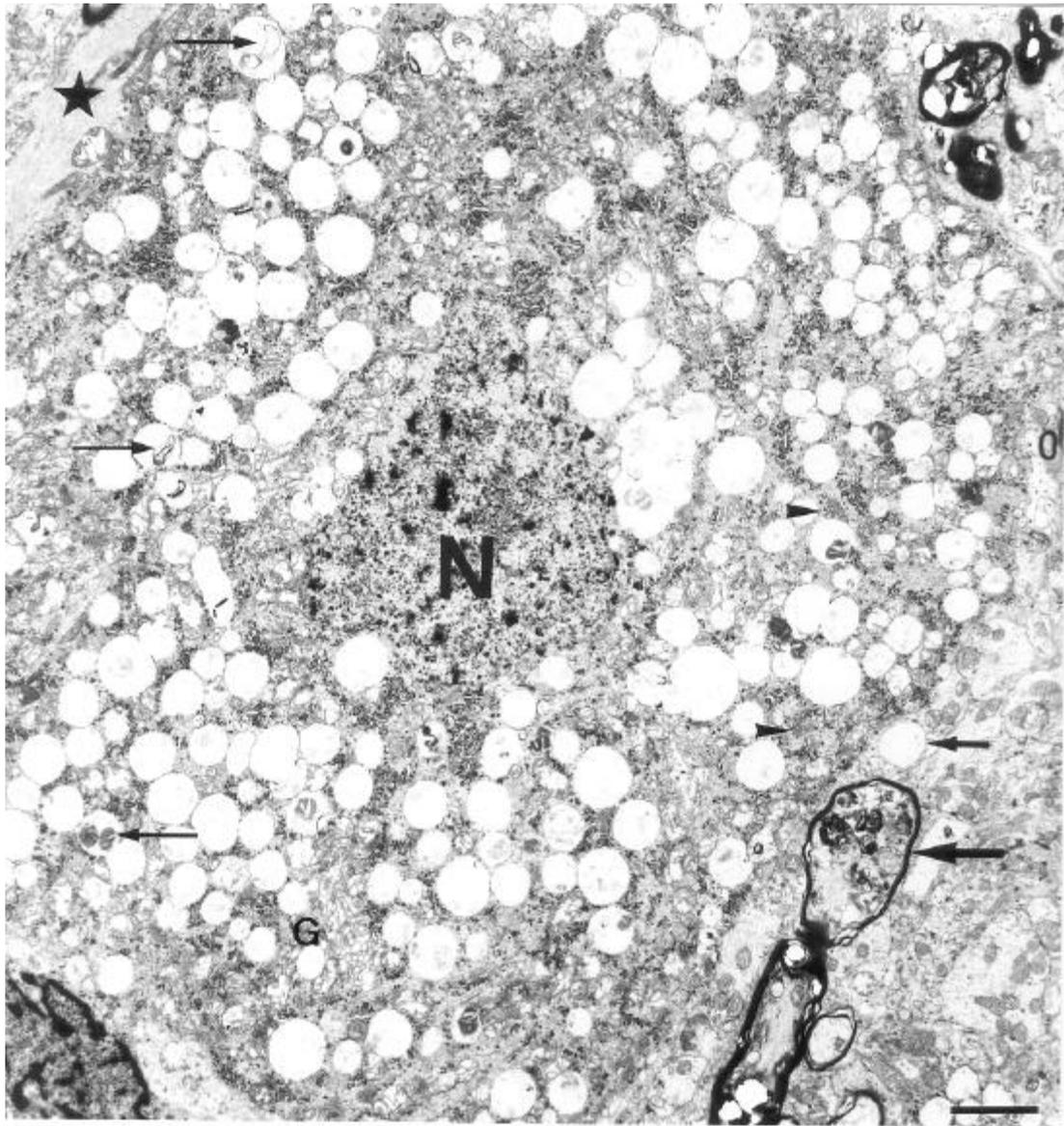


**Abb. 32:**

Zahlreiche zytoplasmatische Vakuolen, die optisch leer sind oder Membranreste, granulär-retikulöses, amorphes oder osmiophiles Material (dünne Pfeile) enthalten. Die Lamellenkörperchen (Keile) des rauhen endoplasmatischen Retikulums sind reduziert. Deutliche Schrumpfung des Zellkernes (N) mit Chromatinkondensation. Golgi-Komplex (G) und Mitochondrien deutlich erkennbar. In der Umgebung ein degeneriertes myelinisiertes rekurrentes Purkinjezellaxon (großer dicker Pfeil) und große nicht myelinfreie Korbzellaxone (Stern), von denen eines eine Zytoplasmavakuole (kleiner dicker Pfeil) aufweist.

Ziege 5081, 30. Versuchstag

Maßstab = 2,45 µm.



**Abb. 33: Axonal-dendritische Degeneration**

a: Längsschnitt eines Sphäroides ("Torpedo") in einem myelinisierten Purkinjellaxonsegment mit massiver Ansammlung von Residualkörpern (Pfeile) und desorganisierten Mikrotubuli (Keile)

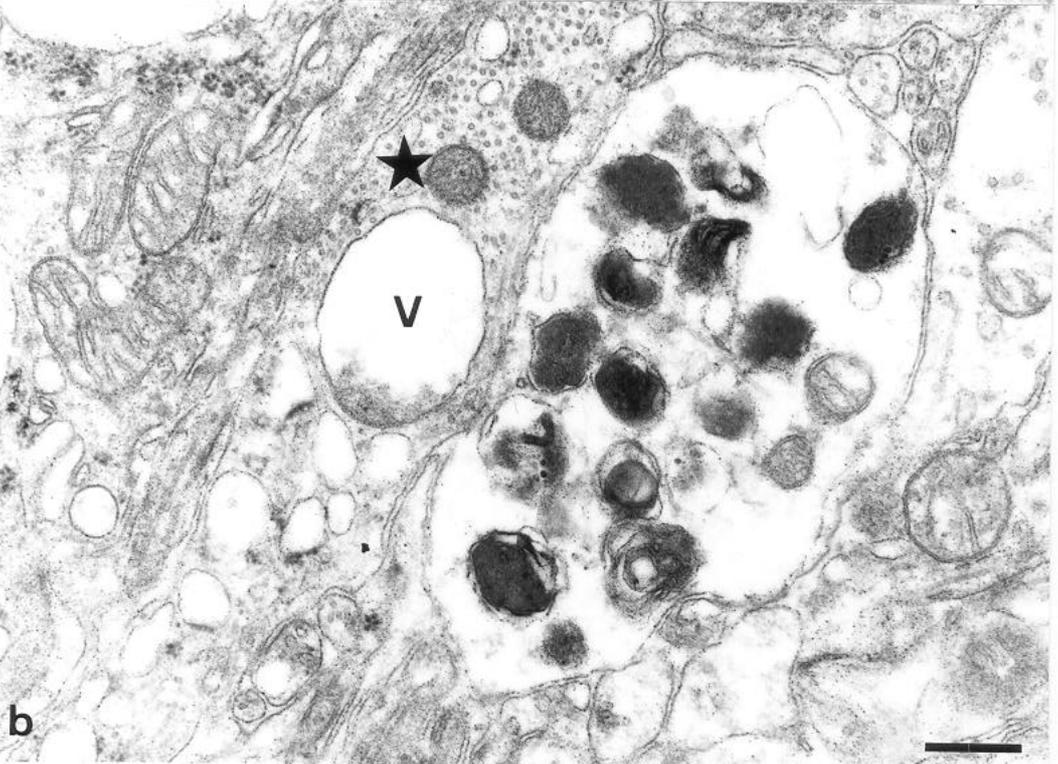
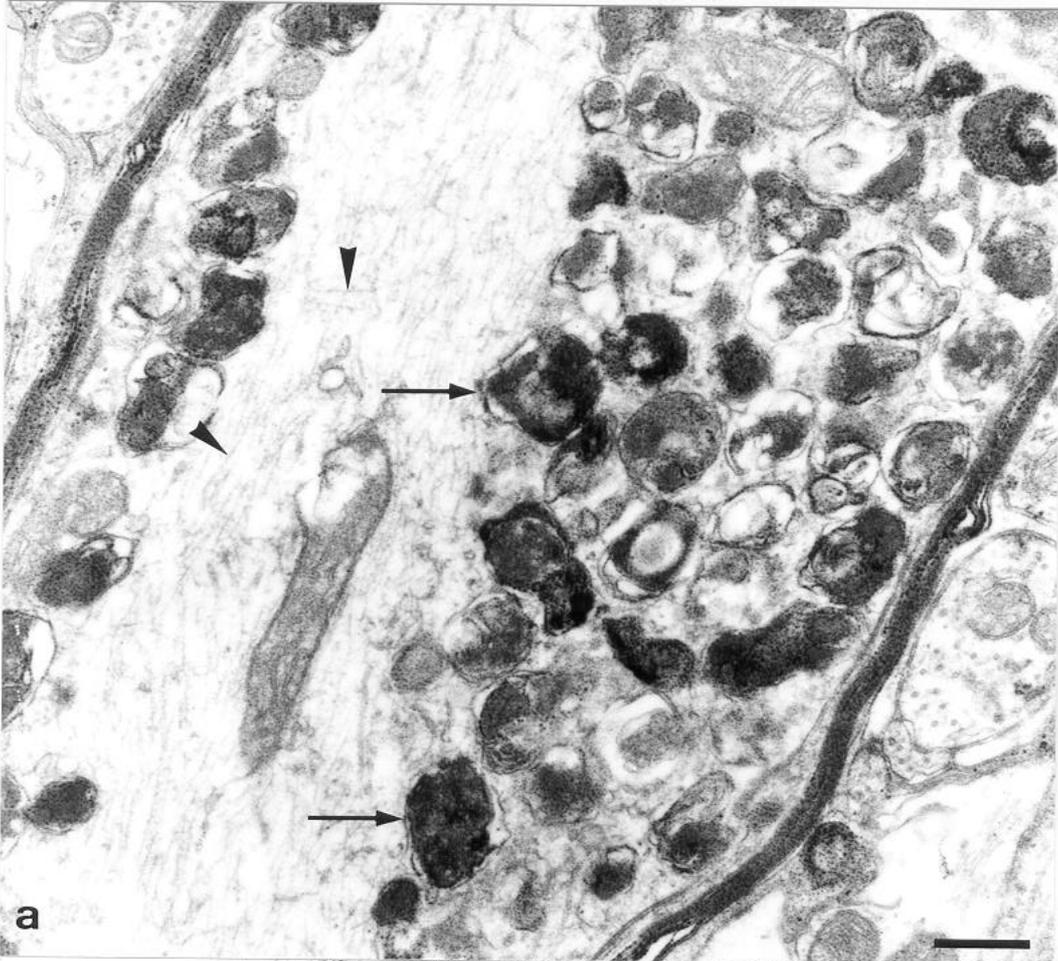
Ziege 5075, 53. Versuchstag

Maßstab = 0,39  $\mu\text{m}$ .

b: Querschnitt durch einen Purkinjellendriten mit unterschiedlichen Residualkörpern in einem elektronenlichten Axoplasma. In der Nachbarschaft ein weiterer Dendrit mit Vakuolenbildung (V). Stern: Mikrotubuli

Ziege 5081, Stratum moleculare der Declive, 30. Versuchstag

Maßstab = 0,39  $\mu\text{m}$ .



**Abb. 34:**

- a: Degenerative Veränderungen eines Purkinjezellendriten mit einem Residualkörper (dicker Pfeil), Gruppierung von Mitochondrien sowie unregelmäßig verteilten Lamellenkörpern (dünner Pfeil) und Mikrotubuli (Keil)

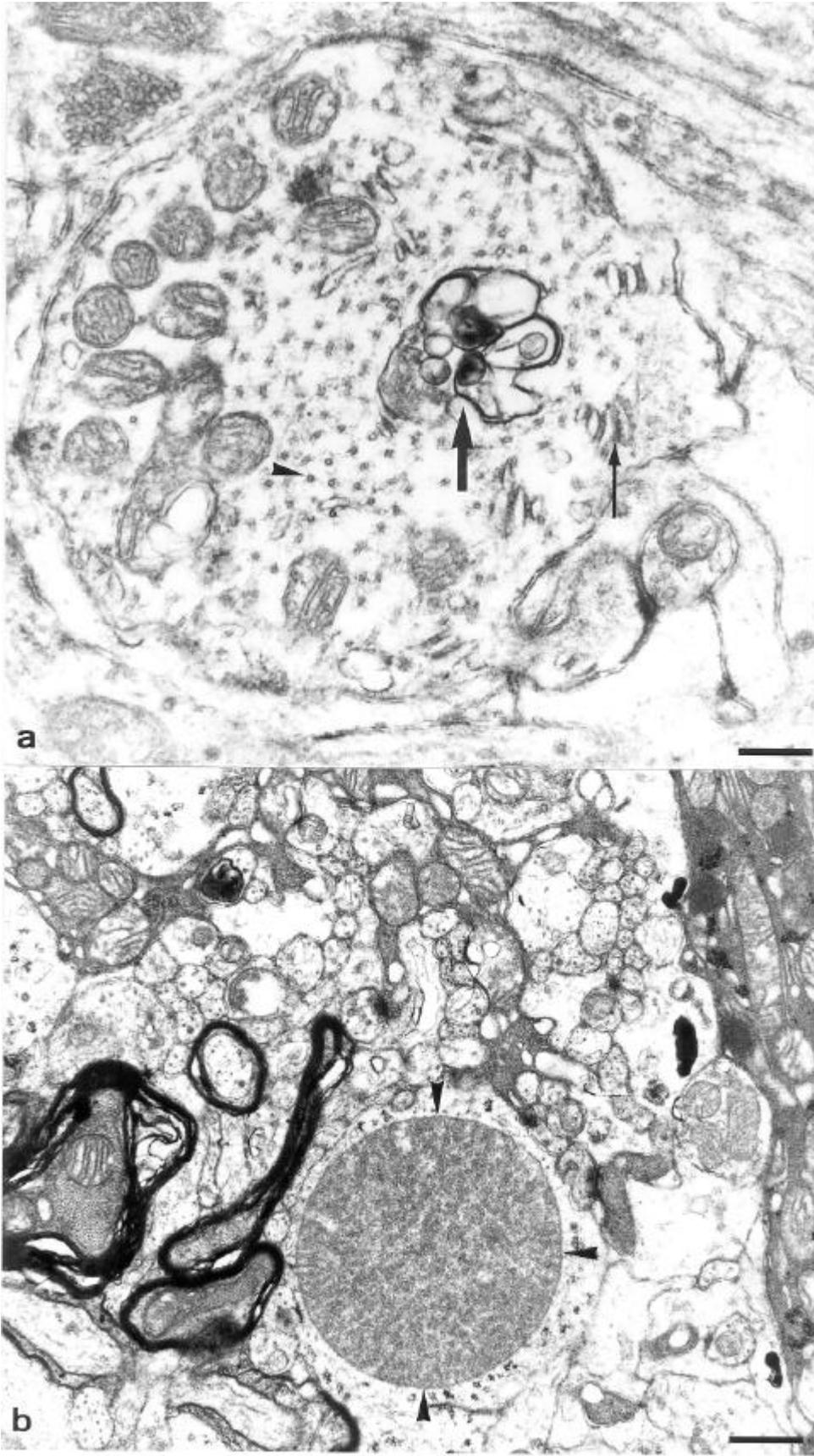
Ziege 5075, Declive, 53. Versuchstag

Maßstab = 0,31  $\mu\text{m}$ .

- b: Einschlußkörperchen (Keile) in einem Dendriten mit Doppelmembran, granulärer Matrix und tubulären Strukturen

Ziege 5069, Stratum moleculare der Declive, 70. Versuchstag

Maßstab = 0,73  $\mu\text{m}$ .



**Abb. 35: Elektronenmikroskopische Befunde an Astrozyten**

a: Ödematisierter perikapillärer Fußfortsatz eines Astrozyten mit mehreren zytoplasmatischen Vakuolen (V). In der Nachbarschaft sind Axone und Dendriten, die Residualkörper (Pfeile) enthalten. K: Kapillare mit Endothelzellkern; Keile: kapilläre Basalmembran

Schaf 5028, 60. Versuchstag

Maßstab = 1,19  $\mu\text{m}$ .

b: Hypertrophischer Astrozyt (Az) mit Anschnitten mehrerer gliafilamentreicher Fortsätze (Sterne) im umgebenden Neuropil, das daneben viele Anschnitte myelinisierter und nicht myelinisierter Nervenfasern (Pfeile) enthält

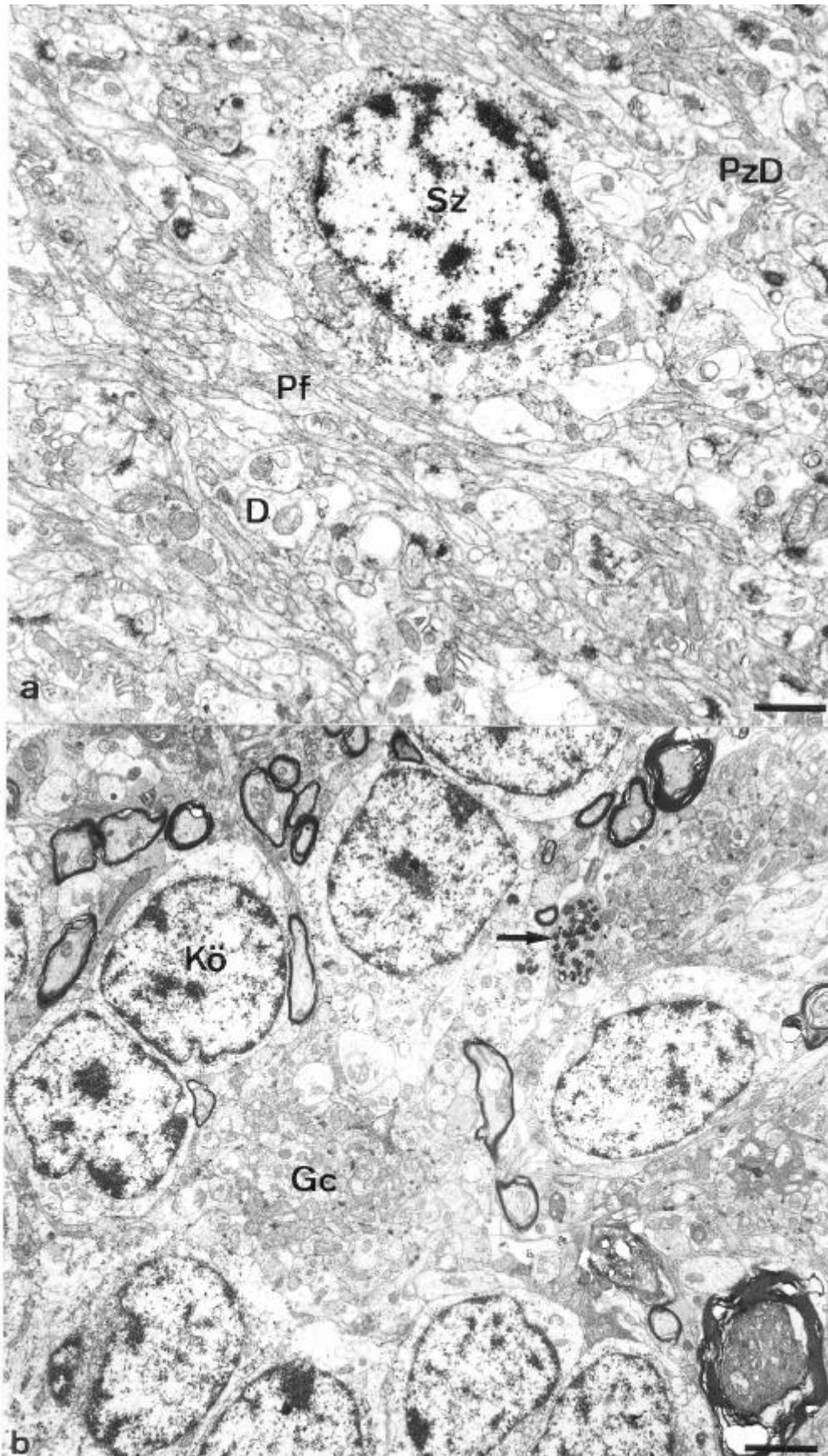
Ziege 5069, Hippocampus, 70. Versuchstag

Maßstab = 2,94  $\mu\text{m}$ .



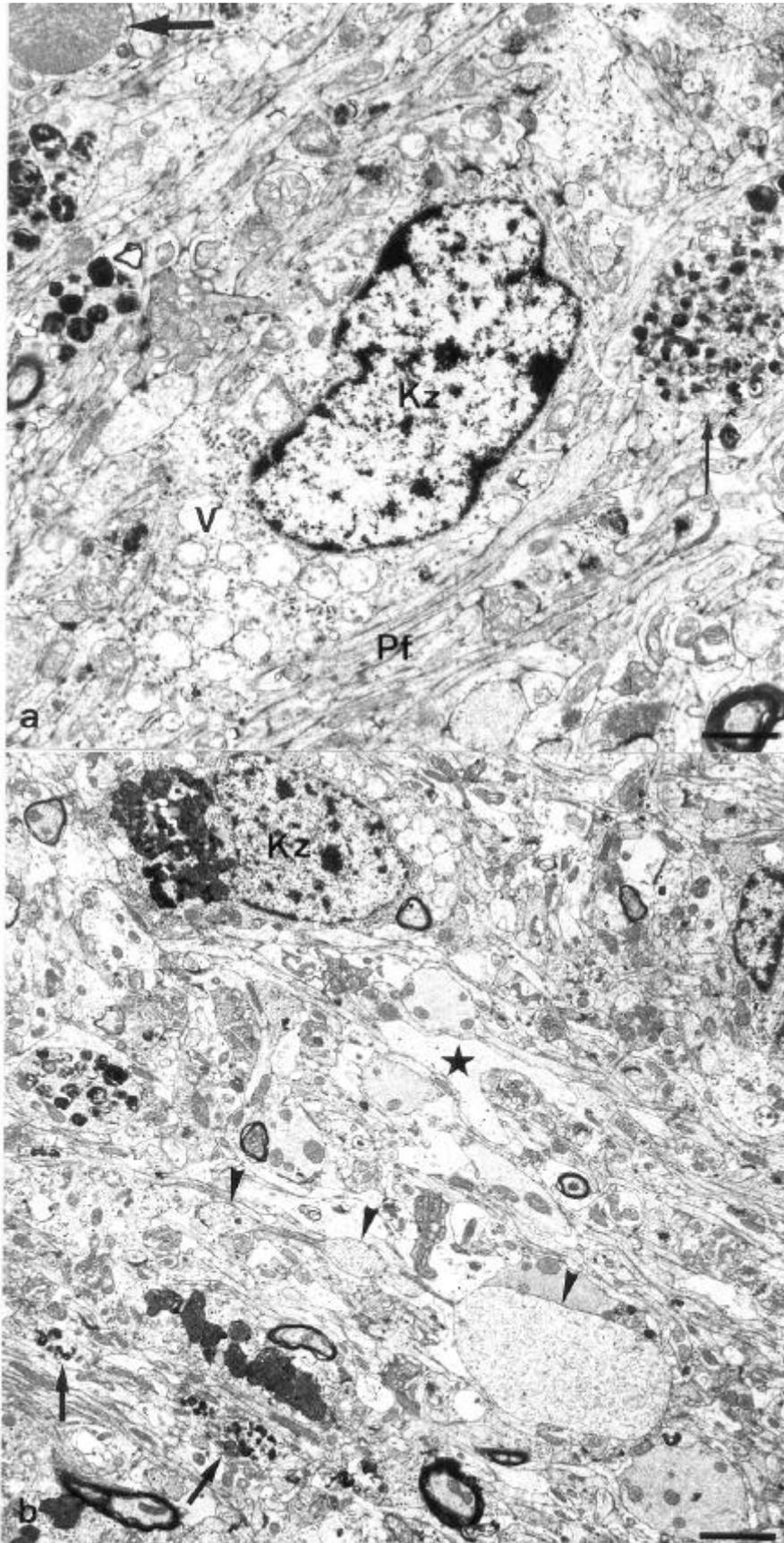
**Abb 36: Elektronenmikroskopische Befunde in der Declive der Kleinhirnrinde während der frühen Phase der experimentellen Vergiftung durch *Ipomoea fistulosa***

- a: Unveränderte Sternzelle (Sz). Im umgebenden Neuropil Anschnitte von nicht myelinisierten Axonen, Dendriten (D), Parallelfasern (Pf) und Purkinjezellendriten (PzD). Dichte Körperchen (Pfeil), Residualkörperchen (Keil)  
Ziege 5081, Stratum moleculare, 30. Versuchstag  
Maßstab = 1,5 µm.
- b: Sphäroid in einem nicht myelinisierten Axon (Pfeil). In der Umgebung ein Glomerulus cerebellosus (Gc) und mehrere Körnerzellen (Kö)  
Ziege 5081, Stratum granulosum, 30. Versuchstag  
Maßstab = 2,94 µm.



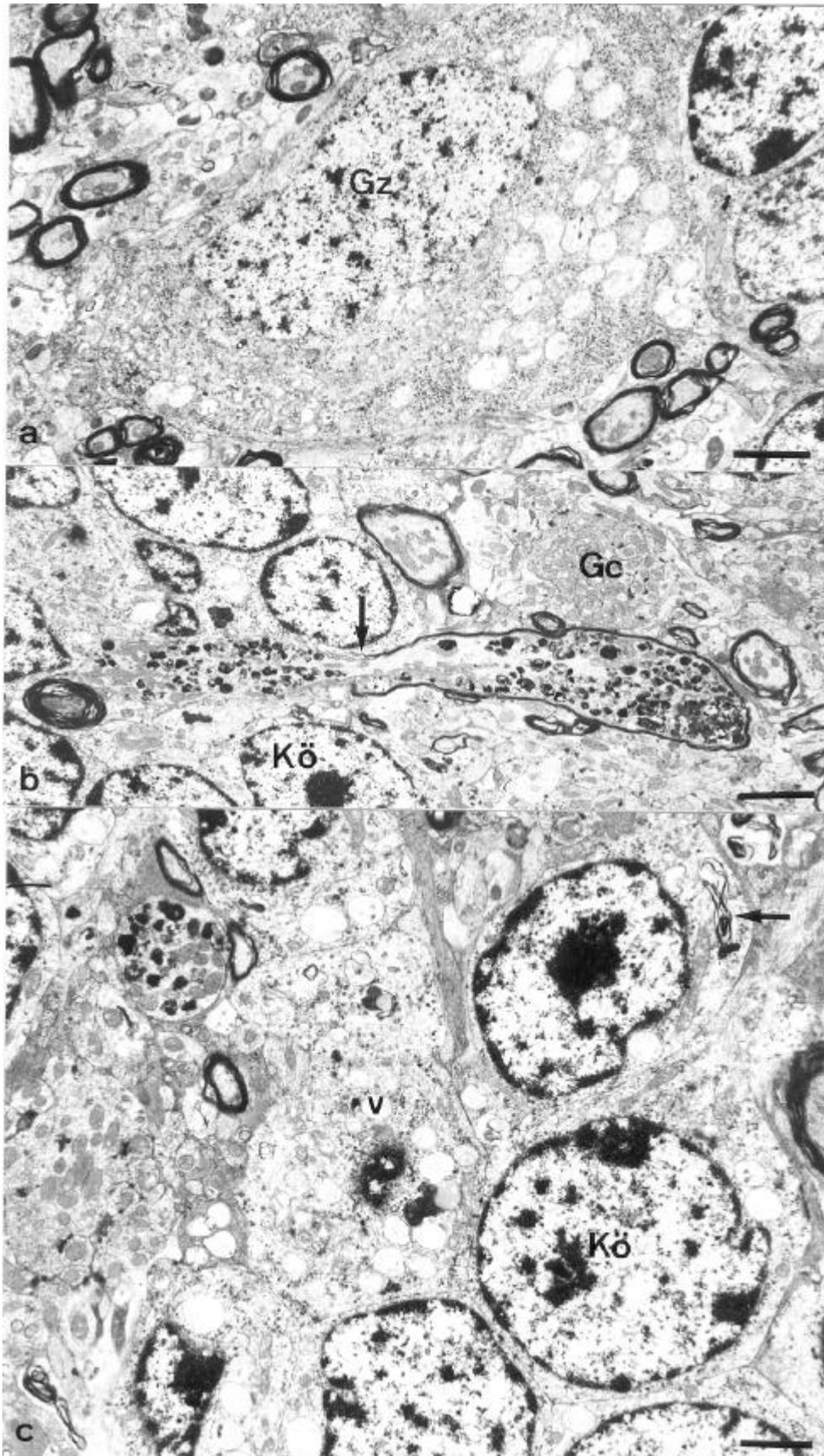
**Abb. 37: Elektronenmikroskopische Befunde in der Declive der Kleinhirnrinde während der Phase der voll ausgebildeten Erkrankung bei der experimentellen Vergiftung durch *Ipomoea fistulosa***

- a: Ausgeprägte Vakuolisierung (V) einer Korbzelle (Kz). Im umgebenden Neuropil Ansammlung von dichten Körperchen in Purkinjezellendriten (dünner Pfeil). Pf: Parallelfasern; dicker Pfeil: Einschlußkörperchen  
Ziege 5075, Stratum moleculare, 53. Versuchstag  
Maßstab = 1,5 µm.
- b: In einigen Parallelfasern segmentale Ansammlung von dichten Körperchen (Pfeile) und fibrillärem bzw. granulo-retikulärem Material (Keile). Einzelne Dendriten (Stern) erscheinen elektronenlicht. In einer Korbzelle (Kz) zahlreiche Vakuolen und elektronendichtes amorphes Material  
Ziege 5075, Stratum moleculare  
Maßstab = 2,94 µm.



**Abb. 38: Elektronenmikroskopische Befunde in der Declive der Kleinhirnrinde während der Phase der voll ausgebildeten Erkrankung bei der experimentellen Vergiftung durch *Ipomoea fistulosa***

- a: Große Golgizelle (Gz) mit zahlreichen zytoplasmatischen Vakuolen  
Ziege 5075, Stratum granulosum, 53. Versuchstag  
Maßstab = 2,32 µm.
- b: Längsschnitt durch einen "Torpedo" am Übergang des nicht myelinisierten zum myelinisierten Abschnitt eines Purkinjellaxons mit deutlich erkennbarer Internodalzone (Pfeil). In der Umgebung, Körnerzellen (Kö) sowie ein Glomerulus cerebellosus (Gc)  
Ziege 5075, Stratum granulosum, 53. Versuchstag  
Maßstab = 2,94 µm.
- c: Mehrere Körnerzellen (Kö) mit einzelnen und mehreren zytoplasmatischen Vakuolen (V). In einer Körnerzelle kleine Residualkörper (Pfeil). Daneben Anschnitt eines nicht myelinisierten Axons mit Sphäroidbildung.  
Ziege 5075, Stratum granulosum, 53. Versuchstag  
Maßstab = 1,32 µm.



**Abb. 39 bis 62: Kinetik der topographischen Verteilung der neuronalen  
Vakuolisierung und axonalen Sphäroidbildung**

Graue Punktierung= neuronale Vakuolisierung

Schwarze Punktierung= axonale Sphäroidbildung

Verzeichnis der in den Abbildungen 39 bis 55 angewendeten Abkürzungen:

C	Culmen	NL-Pa	Nucleus lentiformis-Pallidum
Ca	Clastrum	NL-Pu	Nucleus lentiformis-Putamen
CA	Corpus amygdaloideum	NLT	Nuclei laterales thalami
CC	Cortex cerebri	NMT	Nuclei mediales thalami
Cc	Colliculus caudalis	No	Nucleus olivaris
CG	Corpus geniculatum	NP	Nuclei pontis
CR	Colliculus rostralis	NR	Nucleus ruber
D	Declive	NSt	Nuclei subthalamici
F	Flocculus	NV	Nuclei vestibularis
FL	Folium vermis	Nvl	Nucleus vestibularis lateralis
Fr	Formatio reticularis	Pf	Paraflocculus
FV	Folium vermis	Pu	Pulvinar
GPH	Gyrus parahippocampalis	Py	Pyramis
H	Hippocampus	S	Schnittebene
L	Lingula cerebelli	Sn	Substantia nigra
LA	Lobulus ansiformis	TV	Tuber vermis
LC	Lobulus centralis	U	Uvula
LP	Lobulus paramedianus	ZI	Zona incerta
N	Nodulus		
NC	Nucleus caudatus		
Nc	Nucleus cuneatus		
Ndct	Nucleus dorsalis corporis trapezoidei		
Nfa	Nucleus fastigii		
Nfl	Nucleus funiculi lateralis		
Ng	Nucleus gracilis		
NH	Nuclei hypothalami		
Nic	Nuclei interpositi cerebelli		
Nlc	Nucleus lateralis cerebelli		

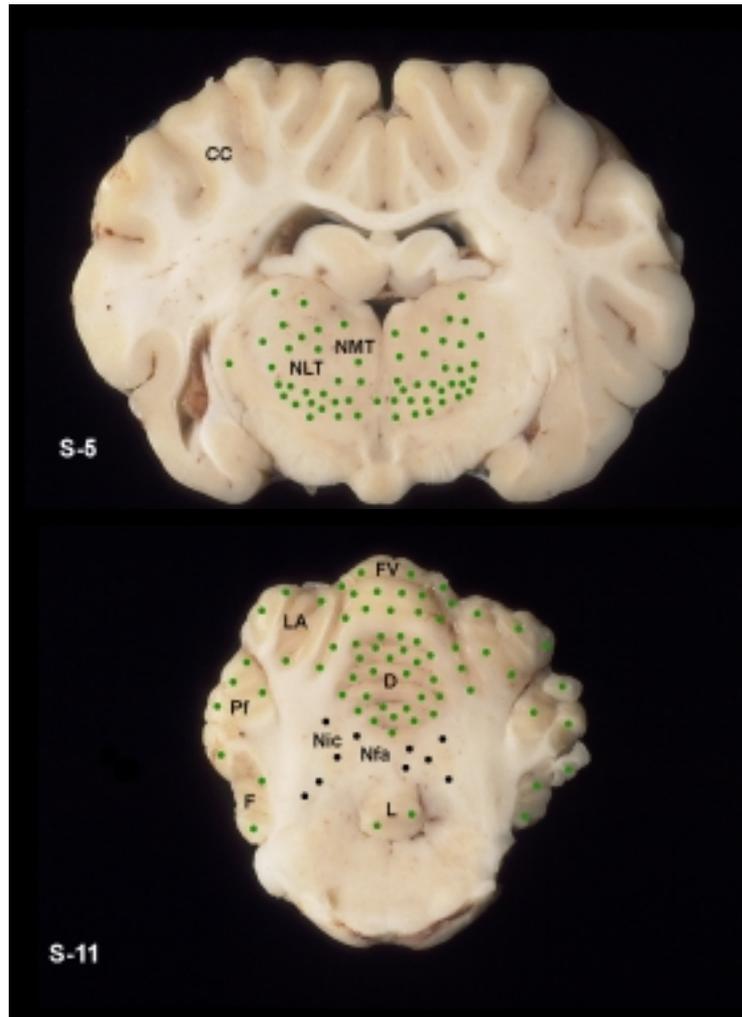


Abb. 39: 20. Versuchstag, Ziege 5082

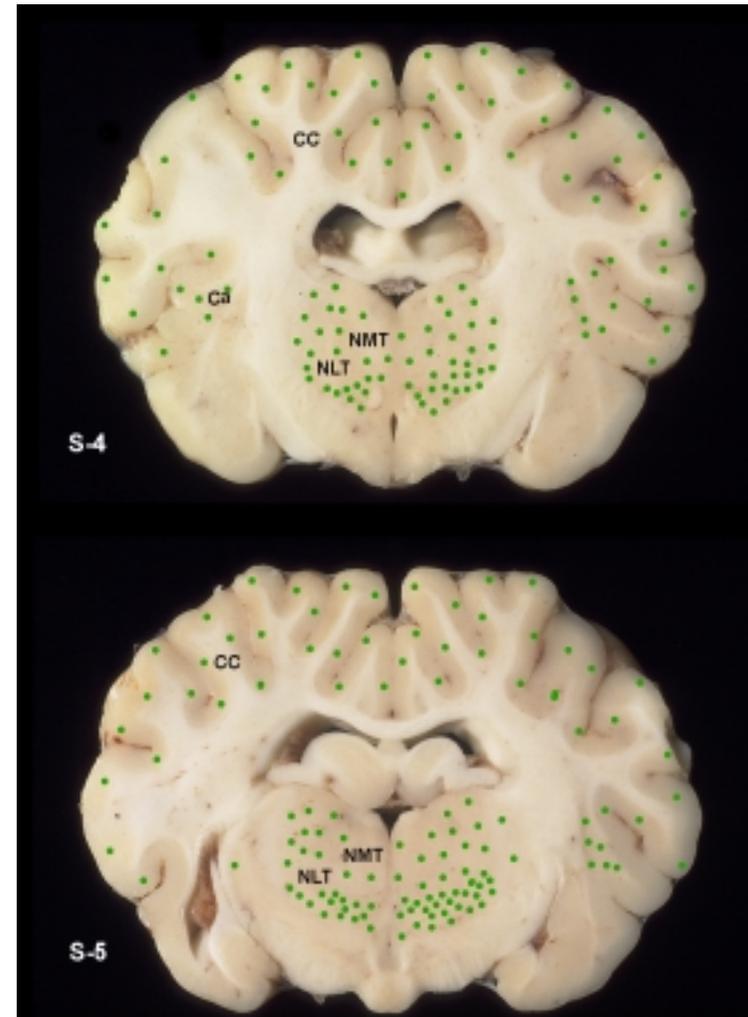


Abb. 40: 30. Versuchstag, Ziege 5081

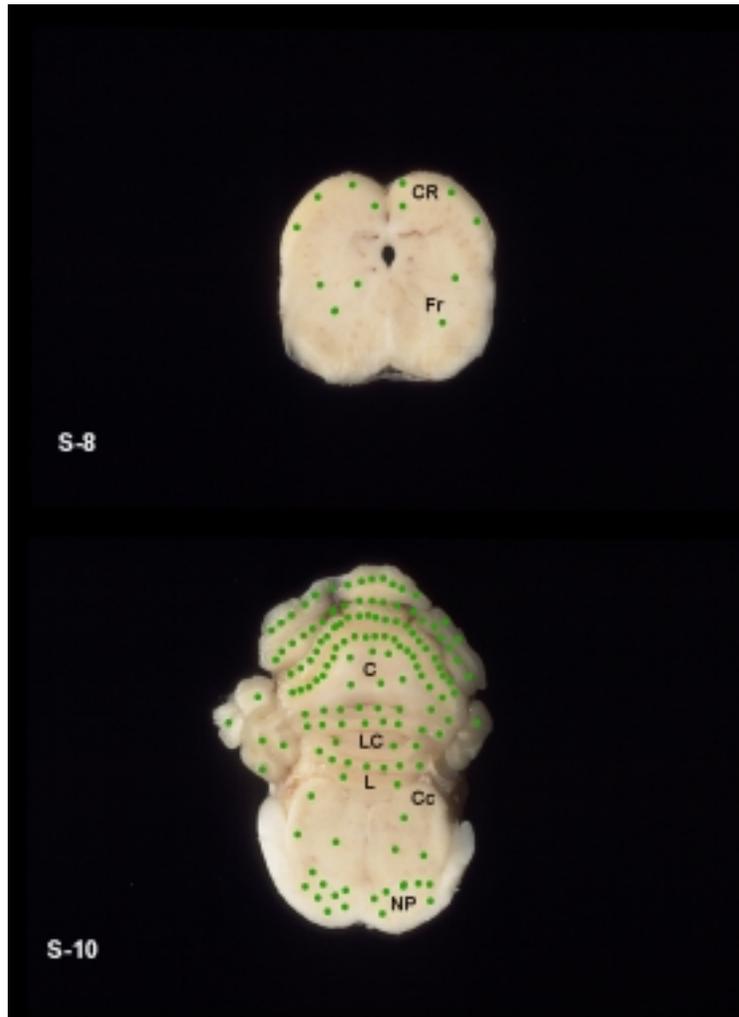


Abb. 41: 30. Versuchstag, Ziege 5081

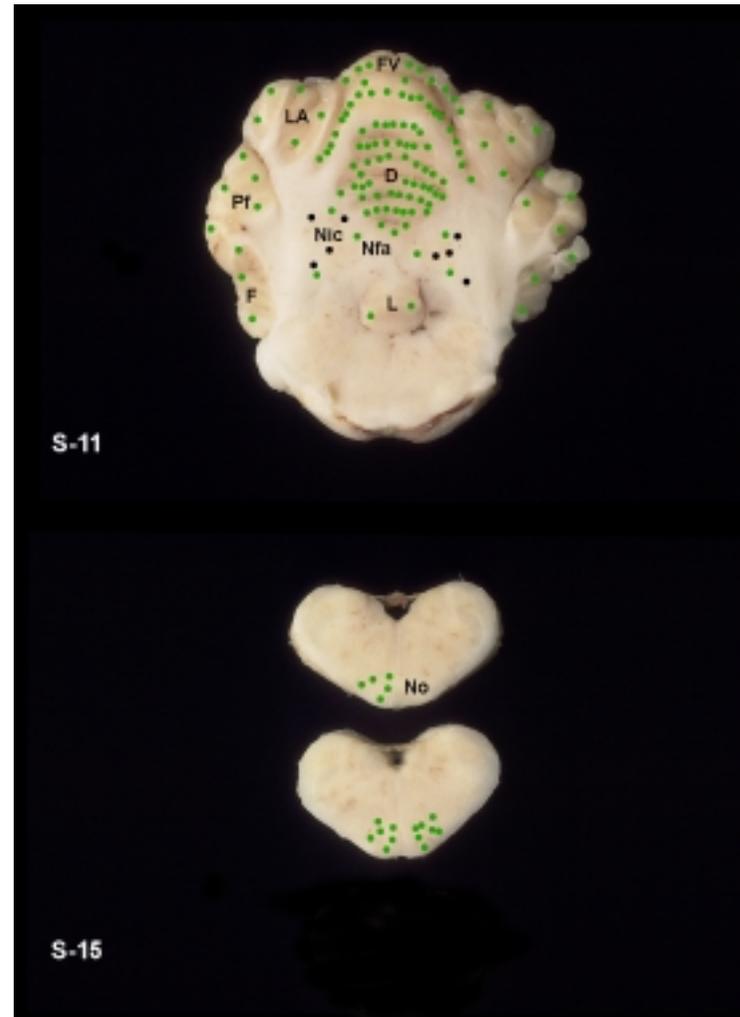


Abb. 42: 30. Versuchstag, Ziege 5081

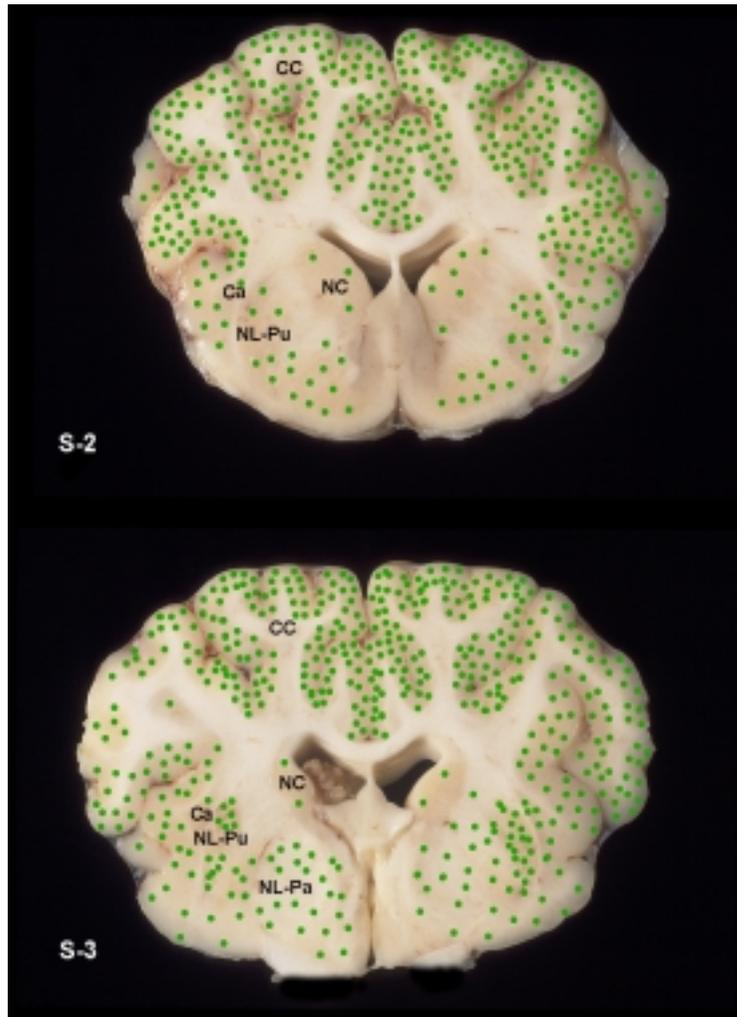


Abb. 43: 40. Versuchstag, Ziege 5080

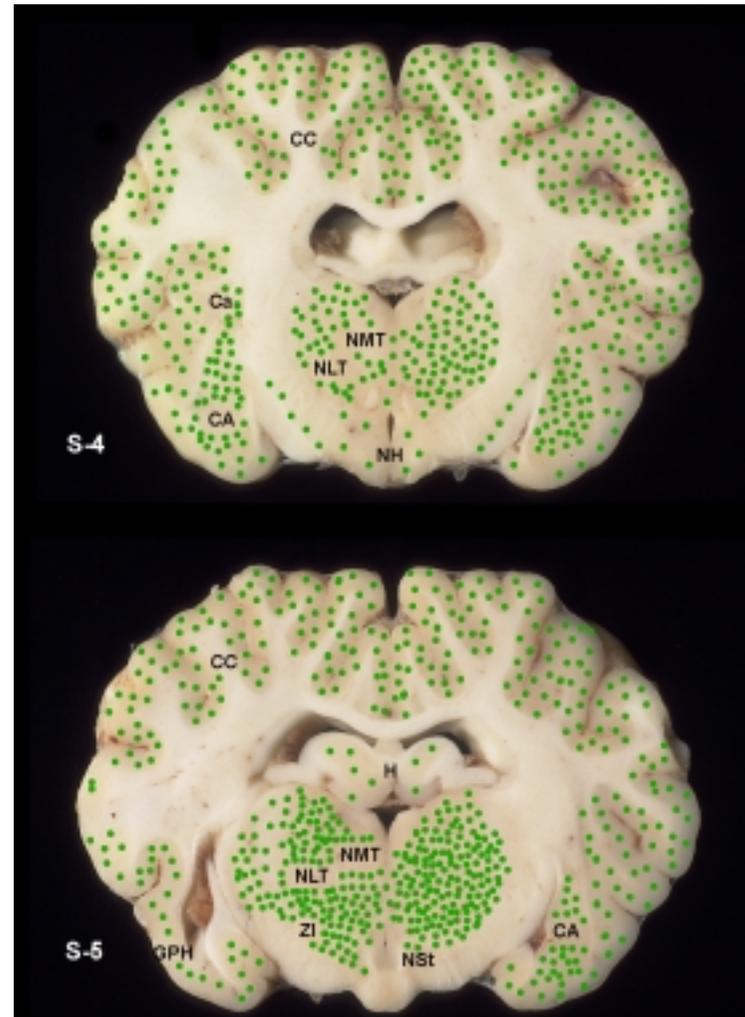


Abb. 44: 40. Versuchstag, Ziege 5080

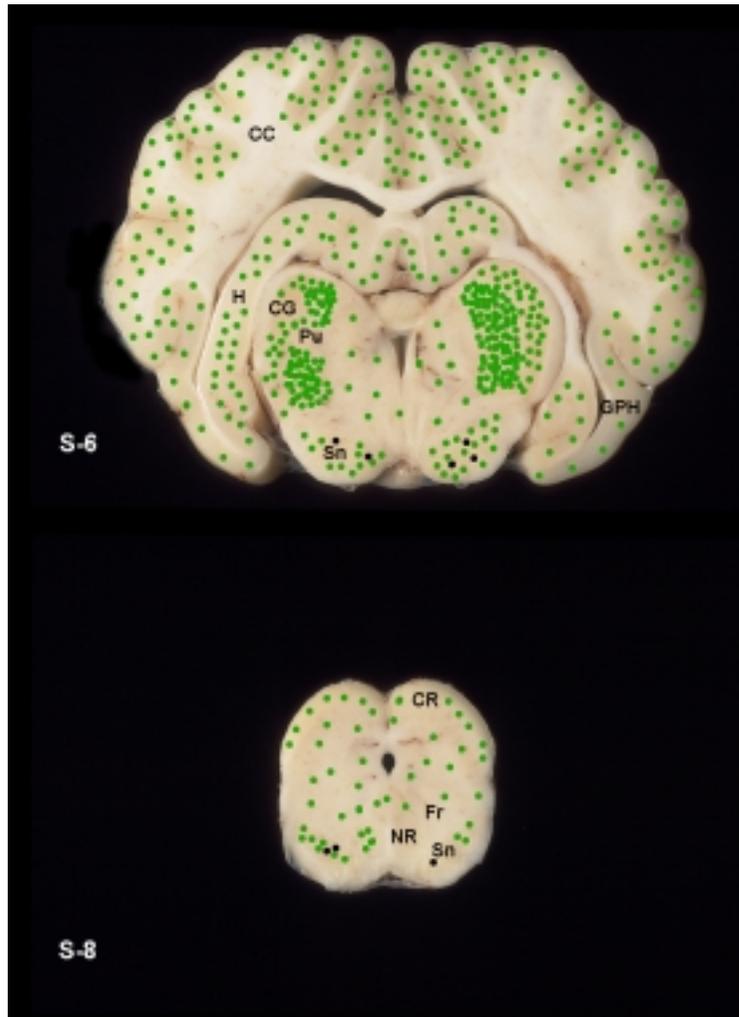


Abb. 45: 40. Versuchstag, Ziege 5080

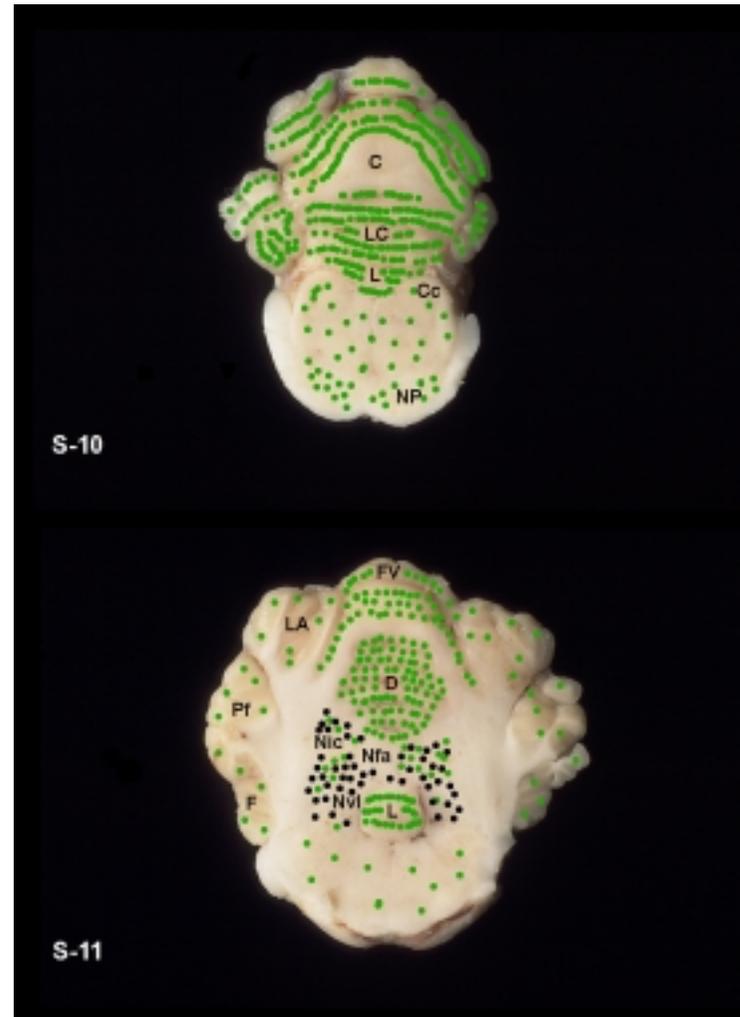


Abb. 46: 40. Versuchstag, Ziege 5080

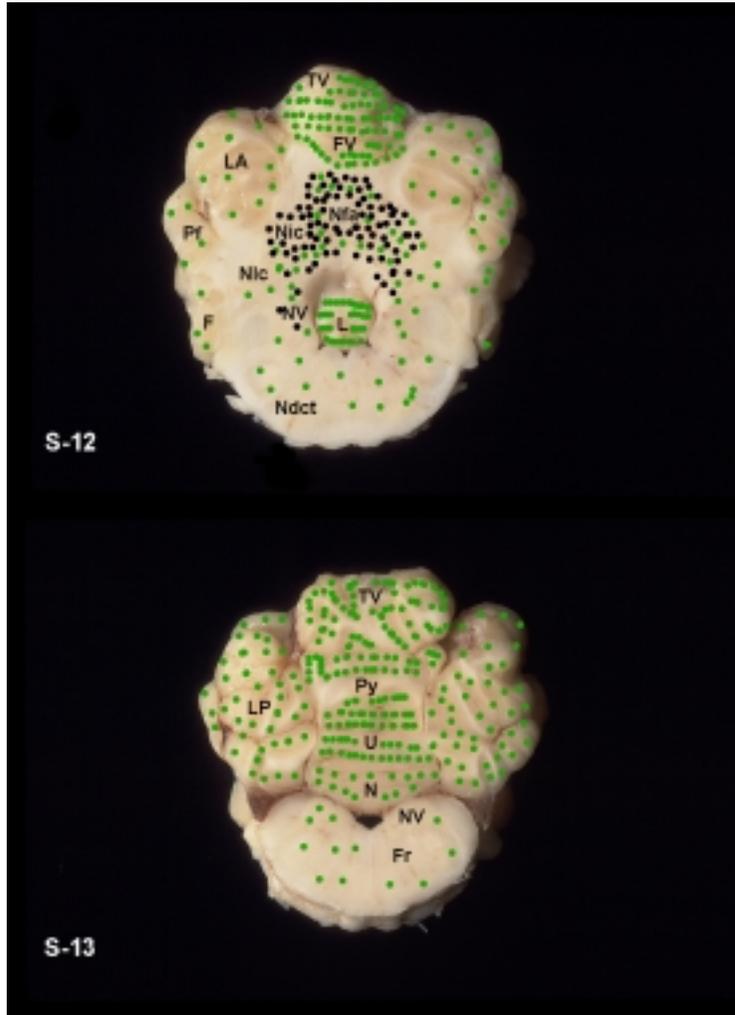


Abb. 47: 40. Versuchstag, Ziege 5080

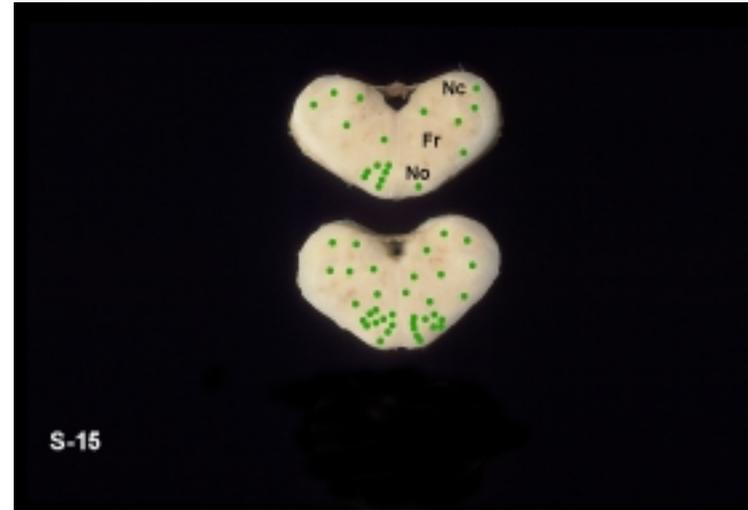


Abb. 48: 40. Versuchstag, Ziege 5080

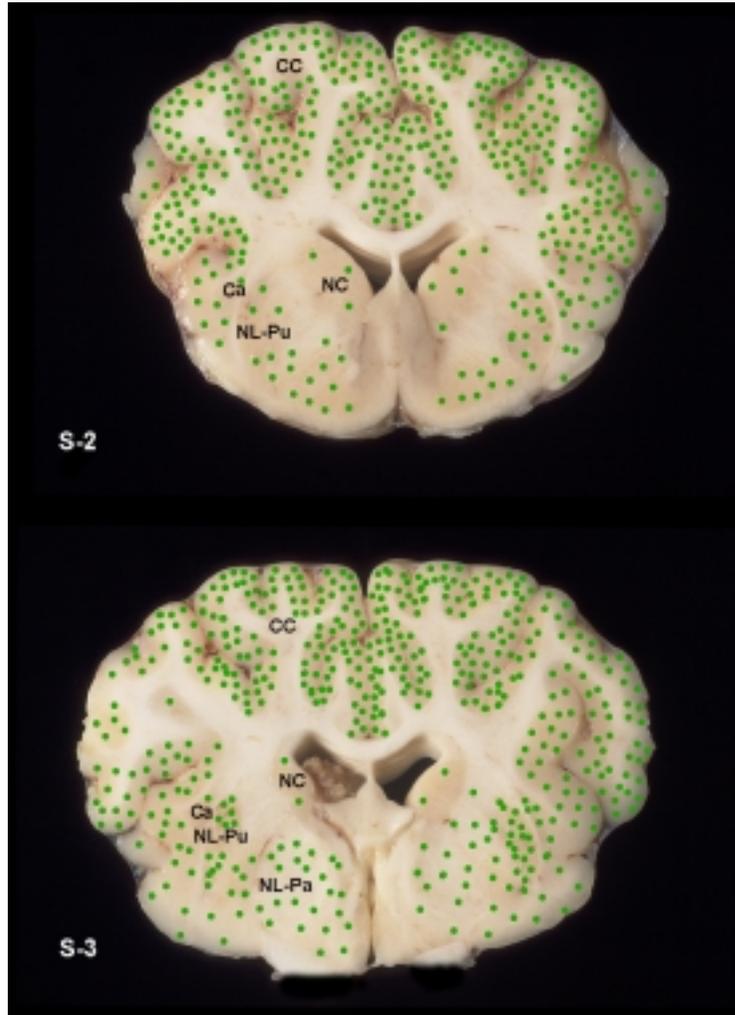


Abb. 49: ab dem 50. Versuchstag

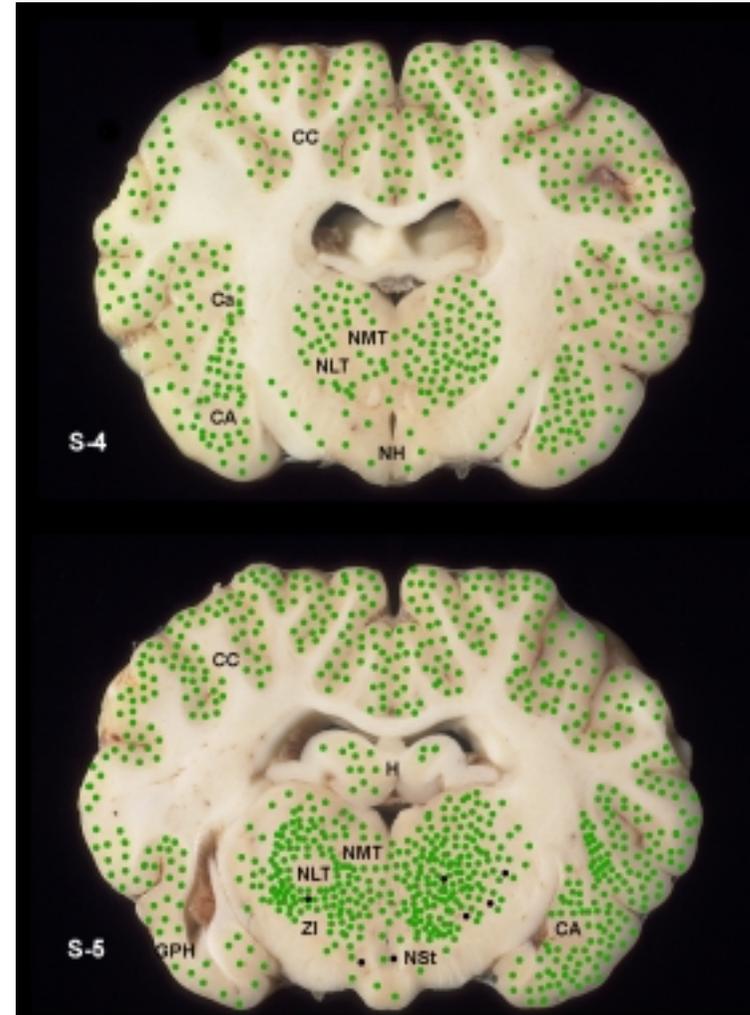


Abb. 50: ab dem 50. Versuchstag

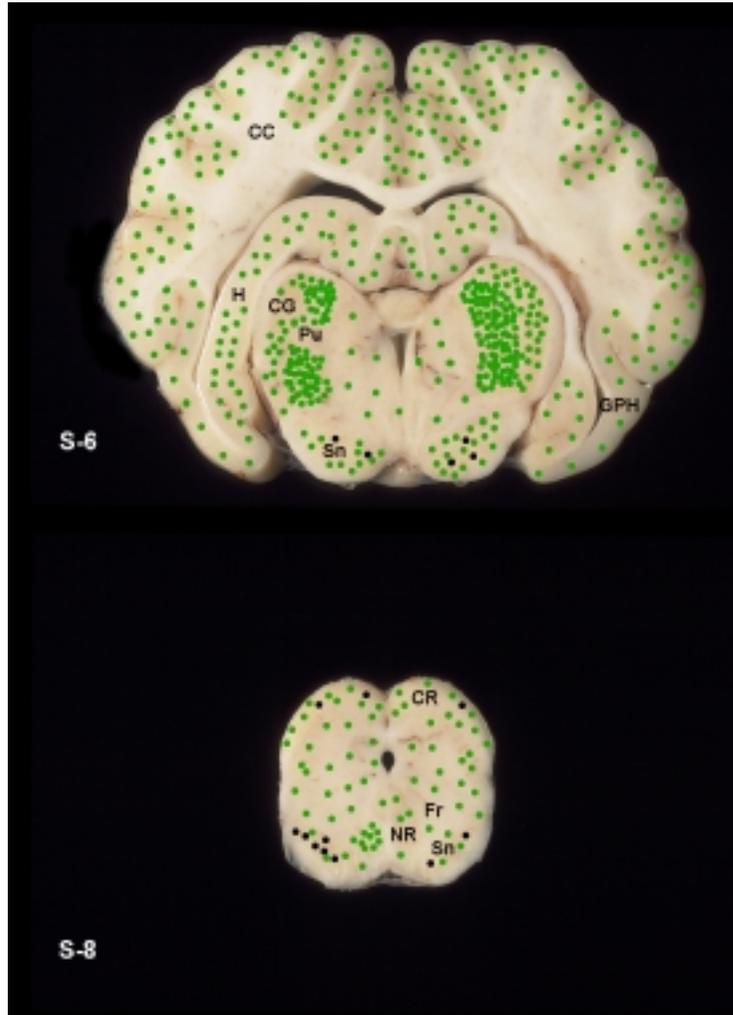


Abb. 51: ab dem 50. Versuchstag

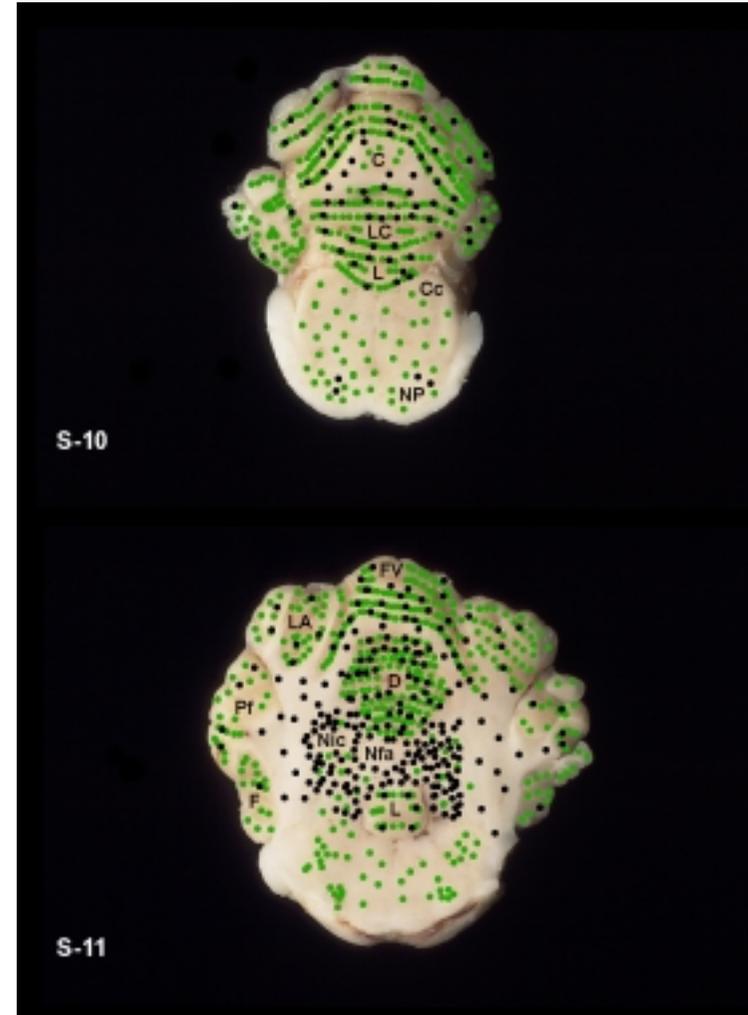


Abb. 52: ab dem 50. Versuchstag

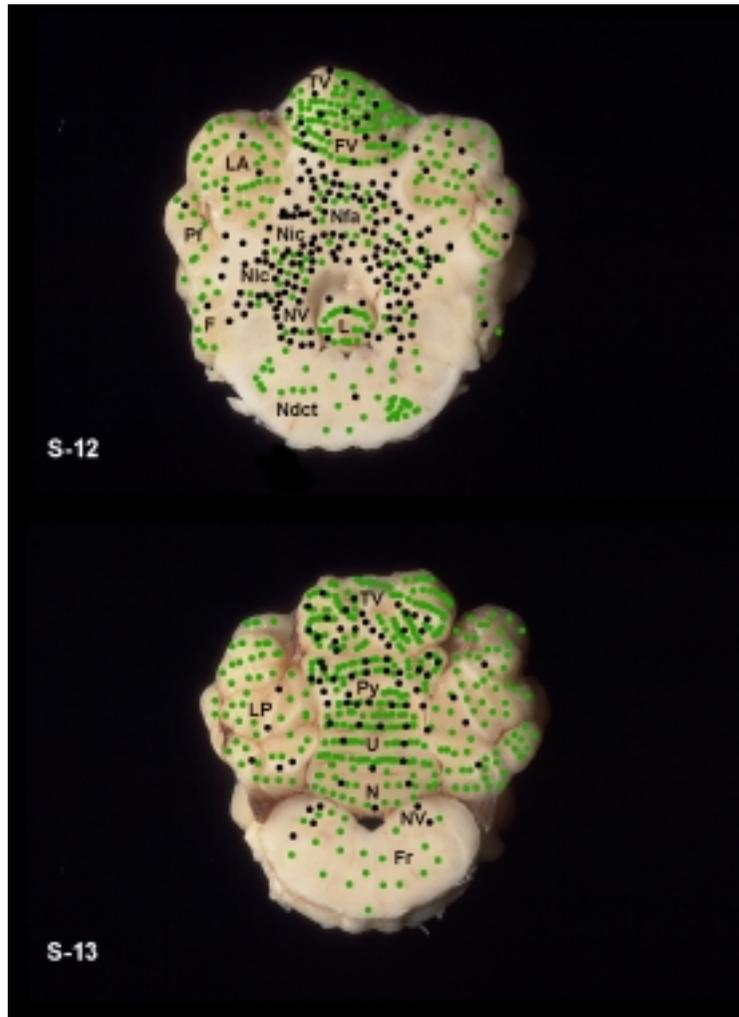


Abb. 53: ab dem 50. Versuchstag

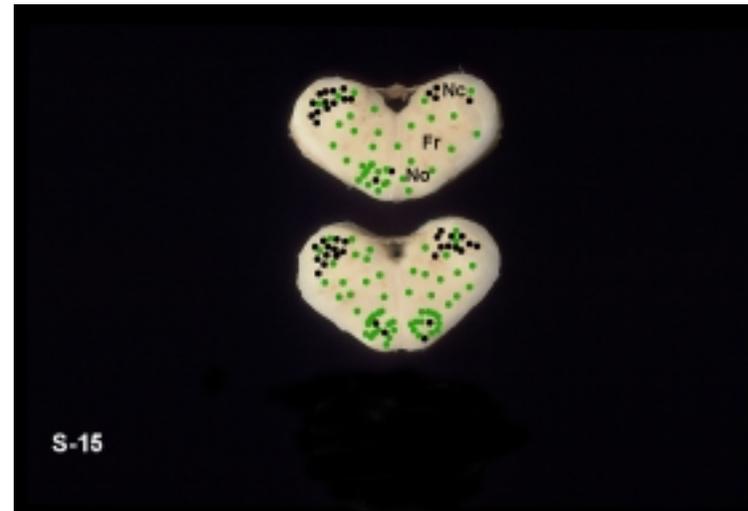


Abb. 54: ab dem 50. Versuchstag

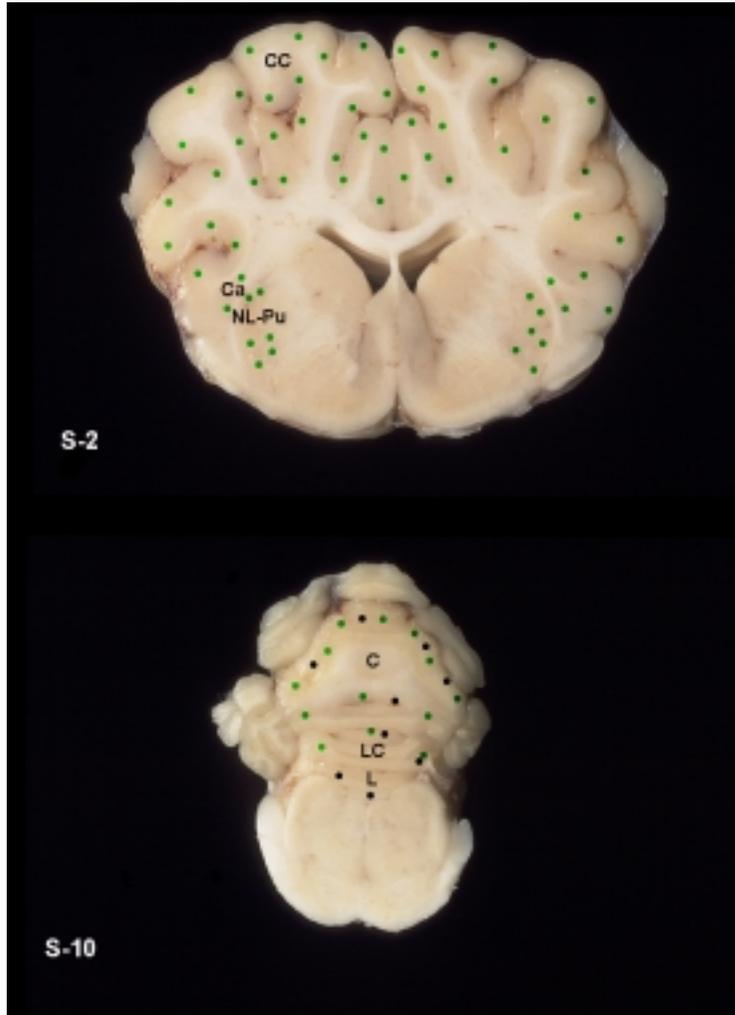


Abb. 55: 70. Versuchstag, Ziege 5069

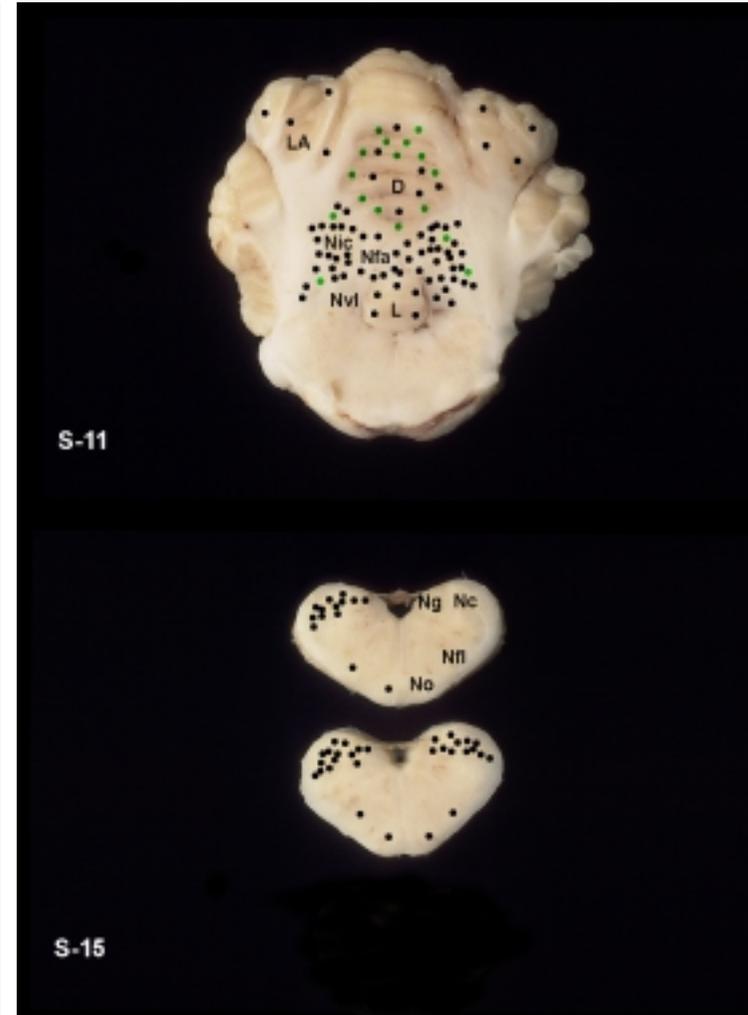


Abb. 56: 70. Versuchstag. Ziege 5069

---

**7 LITERATURVERZEICHNIS**

ADAM, S.E.I.; TARTOUR, G.; OBEID, H.M.; IDRIS, O.F. (1973):

Effects of *Ipomoea carnea* on the liver and on serum enzymes in young ruminants.

J. Comp. Path. **83**: 531-542

PROPHET, E.B.; MILLS, B.; ARRINGTON, J.B.; SOBIN, L.H. (eds.) (1994):

Laboratory methods in histotechnology. 279 pp.

Armed Forces institute of Pathology, American Registry of Pathology, Washington

AGMULIOS, D.P. (1995):

The pathology of lysosomal storage disease.

Pathol. Ann. **30**: 247-285

AHERN-RINDELL, A.G.; PIEUR, D.J.; MURNAME, R.D.; RAGHAVAN, S.S.; DANIEL, P.F.; MCCLEUR, R.H.; WALKLEY, S.U.; PARISH, S.M. (1988):

Inherited lysosomal storage disease associated with deficiencies of  $\beta$ -galactosidase and  $\alpha$ -neuraminidase in sheep.

Am. J. Med. Genet. **31**: 39-56

ALLEN, A.K.; NEUBERGER, A.; SHARON, N. (1973):

The purification, composition and specificity of wheat germ agglutinin.

Biochem. J. **131**: 155-162

ALMEIDA COSTA, O. (1948):

Plantas tóxicas para o gado.

Rev. Flora Medicinal, **16**(1): 1-13

- ALROY, J.; ORGAD, U.; UCCI, A.A.; PEREIRA, M.E.A. (1984):  
Identification of glycoprotein storage disease by lectins: A new diagnostic method.  
J. Histochem. Cytochem., **32**(12): 1280-1284
- ALROY, J.; ORGAD, U.; UCCI, A.A.; GRAVRIS, V.E. (1985):  
Swainsonine toxicosis mimics lectin histochemistry of mannosidosis.  
Vet. Pathol., **22**: 311-316
- ALROY, J.; UCCI, A.A.; GOYAL, V.; WOODS, W. (1986):  
Lectin histochemistry of glycolipid storage disease on frozen and paraffin-embedded tissue sections.  
J. Histochem. Cytochem., **34**(4): 501-505
- ARMIÓN, A.G.; TOKARNIA, C.H.; PEIXOTO, P.V. (1993):  
Intoxicação experimental por *Baccharis megapotamica* em ovinos.  
Pesq. Vet. Bras., **13** (1/2): 5-20
- AUSTIN, D.F. (1977):  
*Ipomoea carnea* Jacq. vs. *Ipomoea fistulosa* Mart. ex Choisy.  
Taxon **26** (2/3): 235-238
- AUSTIN, D.F.; HUÁMAN, Z. (1996):  
A synopsis of *Ipomoea* (Convolvulaceae) in the Americas  
Taxon **45**: 3-38
- DE BALOHG, K.K.I.M.; DIMANDE, A.P.; VAN DER LUGT, J.J.; MOLYNEUX, R.J.; NAUDE, T.W.; WELMAN, W.G. (1998):  
*Ipomoea carnea*: The cause of a lysosomal storage disease in goats in Mozambique.

In: Garland, T.; Barr, C. (eds). Toxic plants and other natural toxicants. pp. 428- 434. Cab International

DE BALOHG, K.K.I.M.; DIMANDE, A.P.; VAN DER LUGT, J.J.; MOLYNEUX, R.J.; NAUDE, T.W.; WELMAN, W.G. (1999):

A lysosomal storage disease induced by *Ipomoea carnea* in goats in Mozambique.

J Vet. Diagn. Invest. **11**: 266-273

BARROS, S.S.; RIET-CORREA, F.; ANDUJAR, M.B.; BARROS, C.S.L.; MÉNDEZ, M.D.C.; SCHILD, A.L. (1987):

*Solanum fastigiatum* var. *fastigiatum* and *Solanum* sp. poisoning in cattle: ultrastructural changes in the cerebellum.

Pes. Vet. Bras. **7**(1): 1-5

BASZLER, T.V.; HARWOOD, W.G.; LESTER, K. L.; DAVIS, W.C.; KNOWLES, D. P. (1994):

Characterization of caprine microglial cells and *in vitro* infection with caprine arthritis-encephalitis lentivirus.

Laboratory Investigation **70**(6): 933-943

BEUTLER, E.; GRABOWSKI, G.A. (1995):

Gaucher disease.

In: Scriver, C.R.; Beaudet, A.L.; Sly, W.S.; Valle, D. (eds). The metabolic and molecular bases of inherited disease. pp. 2641-2670. 7<sup>th</sup> McGraw-Hill, New York, NY

BORLAND, N.A.; JERRET, I.V.; EMBURY, D.N. (1984):

Mannosidosis in aborted and stillborn Galloway calves.

Vet. Rec. **109**: 441-404

BOURKE, C. (1997):

Cerebellar degeneration in goats grazing *Solanum cinerum* (Narrawa burr).

Aust. Vet. J. **75**(5): 363-365

BRADA, D; KERJASCHKI, D.; ROTH, J. (1990):

Cell type-specific post-Golgi apparatus localization of a „Resident“ endoplasmic reticulum glycoprotein, glucosidase II.

J. Cell Biol. **110**: 309-318

BRAGA, R. (1953):

Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará. Centro de Divulgação Universitária, Fortaleza, Ceará.

BRYAN, L.; SCHMUTZ, S.; HODGES, D.; SNYDER, F.F. (1993):

Bovine  $\beta$ -mannosidosis: Pathologic and genetic findings in Salers calves.

Vet. Pathol. **30**: 130-139

BRODAL, A. (1967):

Anatomical studies of cerebellar fibre connections with special reference to problems of functional localization.

In: Fox, C.A.; Snider, R.S. (eds.) The cerebellum. Vol 25, pp 135- 173.

Progress in brain research, Elsevier Publishing Company, Amsterdam

CASTANARO, M.; ALROY, J.; UCCI, A.A.; GLEW, R.H. (1987):

Lectin histochemistry and ultrastructure of feline kidneys from six different storage disease.

Virchows Arch. B, **54**: 16-26

CASTANARO, M. (1990):

Lectin histochemistry of the central nervous system in a case of feline  $\alpha$ -mannosidosis.

Research in Veterinary Science **49**: 375-377

CERVÓS-NAVARROS, J. (1991):

Pathologie des Nervensystems V: Degenerative und metabolische Erkrankungen.

In: Doerr, W.; Seifert, G.; Uehlinger, E. (eds): Spezielle pathologische Anatomie. Band 13/V. 926 pp. Springer-Verlag, Heidelberg

COLEGATE, S.M.; DORLING, P.R.; HUXTABLE, C.R. (1979):

A spectroscopic investigation of swainsonine an  $\alpha$ -mannosidase inhibitor isolated from *Swainsona canescens*.

Aust. J. Chem. **32**: 2257-2264

CONRADI, N.G.; SOURANDER, P.; NILSSON, L.; SVENNERHOLM, L.; ERIKSON, A. (1984):

Neuropathology of the Norrbottnian type of Gaucher disease.

Acta Neuropathol. (Berl.) **65**: 99-109

DAMIR, H.A.; ADAM, S.E.I.; TARTOUR, G. (1987):

The effects of *Ipomoea carnea* on goats and sheep.

Vet. Hum. Toxicol. **29**(4): 316-319

DANIEL, P.F.; WARREN, C.D.; JAMES, L.F.; JOLLY, R.D. (1989)

A comparison of swainsonine-induced and genetic  $\alpha$ -mannosidosis in Aberdeen Angus cattle.

In: James, L.F.; Elbein, A.D.; Molyneux, R.J.; Warren, C.D. (eds). Swainsonine and related glycosidase inhibitors. pp 331-343. Iowa State University Press / Ames

- DEBRAY, H.; DECOUT, D.; STRECKER, G.; SPIK, G.; MONTREUIL, J. (1981):  
Specificity of twelve lectins towards oligosaccharides and glycopeptides related to N-glycosylproteins.  
Eur. J. Biochem. **117**: 41-55
- DESNICK, R.J.; IOANNOU, Y.A.; ENG, C.M. (1995):  
 $\alpha$ -Galactosidase A deficiency: Fabry disease.  
In: Scriver, C.R.; Beaudet, A.L.; Sly, W.S.; Valle, D. (eds). The metabolic and molecular bases of inherited disease. pp 2741-2784. 7<sup>th</sup> McGraw-Hill, New York, NY
- DIXON, W.J., chief editor (1993):  
BMDP Statistical Software Manual, Volume 1 and 2. University of California Press, Berkeley, Los Angeles, London.
- DONNELLY, W.J.C.; SHEAHAN, B.J.; KELLY, M. (1973a):  
 $\beta$ -Galactosidase deficiency in G<sub>M1</sub> gangliosidosis of Friesian calves.  
Res. Vet. Sci. **15**: 139-141
- DONNELLY, W.J.C.; SHEAHAN, B.J.; ROGERS, T.A. (1973b):  
G<sub>M1</sub> gangliosidosis in Friesian calves.  
J. Pathol. **111**: 173-179
- DORLING, P.R.; HUXTABLE, C.R.; VOGEL, P. (1978):  
Lysosomal storage disease in *Swainsona* spp. toxicosis: An induced mannosidosis.  
Neuropath. Appl. Neurobiol. **4**: 285-295
- DORLING, P.R.; HUXTABLE, C.R.; COLEGATE, S.M. (1980):  
Inhibition of lysosomal  $\alpha$ -mannosidase by swainsonine, an indolizidine alkaloid isolated from *Swainsona canescens*.

Biochem. J. **191**: 649-651

DORLING, P.R.; HOWELL, J.M.; GAWTHORNE, J.M. (1981):

Skeletal-muscle  $\alpha$ -glucosidase in bovine generalized glycogenosis type II.

Biochem. J. **198**: 409-412

DORLING, P.R.; COLEGATE, S.M.; HUXTABLE, C.R (1989):

Toxic species of the plant genus *Swainsona*.

In: James, L.F.; Elbein, A.D.; Molyneux, R.J.; Warren, C.D. (eds).

Swainsonine and related glycosidase inhibitors. pp 14-22. Iowa State University Press / Ames

DÖBEREINER, J.; TOKARNIA, C.H.; CANELLA, C.F.C. (1960):

Intoxicação experimental pela "salsa" (*Ipomoea asarifolia* R.& Schult.) em ruminantes.

Arq. Inst. Bio. Animal **3**: 39-57

DRIEMEIER, D.; COLODEL, E.M.; GIMENO, E.J.; BARROS, S.S. (1998):

Lysosomal storage disease associated with *Sida* sp. poisoning in goats.

Abstract of the 26<sup>th</sup> Meeting of the European Society of Veterinary Pathology. Lillehammer, Norway

ELBEIN, A.D. (1987):

The effects of plants indolizidine alkaloids and related compounds on glycoprotein processing.

In: James, L.F.; Elbein, A.D.; Molyneux, R.J.; Warren, C.D. (eds).

Swainsonine and related glycosidase inhibitors. pp 155-187. Iowa State University Press / Ames

EVERIST, S.L. (1981):

Poisonous plants of Australia.

pp 478-489. 2<sup>nd</sup> Ed. Angus & Robertson Publishers, Sydney

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED STATE (1997):  
Production yearbook, Vol 51. 470 pp. FAO statistical series N° 142.

FALCÃO, J.I. (1968):

Convolvulaceae representadas no Herbário do Jardim Botânico, sua área de distribuição geográfica no território nacional e países limítrofes.

Anuário Bras. Econ. Flor. **19**:196-219

FOX, C.A.; SNIDER, R.S. (1967):

The cerebellum.

Progress in brain research. Vol 25. Elsevier Publishing Company, Amsterdam

FREIRE ALEMÃO (1884):

Notas colhidas na província do Ceará.

Publicadas por Euzébio Martins Costa na revista Farmacêutica. Tomo 1: 155-160

DE GASPERI, R.; ALROY, J.; RICHARD, R.; GOYAL, V.; ORGAD, U.; LEE, R.E.; WARREN, C. (1990):

Glycoprotein storage in Gaucher disease: Lectin histochemistry and biochemical studies.

Laboratory Investigation **63**(3): 385-393

GEIGER, R. (1989):

Formatio reticularis und Raphekerne bei Schaf und Ziege: Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen

Vet. Med. Diss., Gießen

GOLDSTEIN, I.J.; HAYES, C.E. (1978):

The lectins: carbohydrate-binding proteins of plant and animals.

Adv. Carbohydr. Chem Biochem. **35**: 127-340

GOLDBERG, D.E.; KORNFELD, S. (1983):

Evidence for extensive subcellular organization of asparagine-linked oligosaccharide processing and lysosomal enzyme phosphorylation.

J. Biol. Chem. **258**(5): 3159-3165

GOLLER, H. (1957):

Topographie und segmentaler Feinbau des Rückenmarkes des Schafes (*Ovis aries*).

Vet. Med. Diss., München

GRAHAM, D.I.; LANTOS, E.L. (1997):

Greenfield's neuropathology.

6<sup>th</sup> edition. 1 vol. 1231 pp and 2 vol. 989 pp. Arnold, London,

HANCOCK, W.L., (1989):

Swainsonine effects on glycoprotein catabolism in cultured cells.

In: James, L.F.; Elbein, A.D.; Molyneux, R.J.; Warren, C.D. (eds).

Swainsonine and related glycosidase inhibitors. pp 202-219. Iowa State University Press / Ames

HASSELMANN, K. (1990):

Kerngebiete der Strangsysteme von Schaf und Ziege: Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen.

Vet. Med. Diss., Gießen

HARTLEY, W.J. (1971):

Some observations on the pathology of *Swainsona* spp. poisoning in livestock in Eastern Australia.

Acta Neuropath. (Berl.) **18**: 342-355

HARTLEY, W.J.; BLAKEMORE, W.F. (1973):

Neuronal storage and dysmyelogenesis in neonatal goats.

Acta Neuropath. (Berl.) **25**: 325-333

HARTLEY, W.J.; BAKER, D.C.; JAMES, L.F. (1989):

Comparative pathological aspects of locoweed and *Swainsona* poisoning in livestock.

In: James, L.F.; Elbein, A.D.; Molyneux, R.J.; Warren, C.D. (eds). Swainsonine and related glycosidase inhibitors. pp 202-219. Iowa State University Press / Ames

HEALY, P.J.; SEAMAN, J.T.; GARDNER, I.A.; SEWELL, C.A. (1981):

$\beta$ -Mannosidase deficiency in Anglo Nubian goats.

Aust. Vet. J. **57**: 504-507

HERS, H.G. (1965):

Progress in gastroenterology : Inborn lysosomal disease.

Gastroenterology **48**: 625-633

HIRSCHBERGER, J. (1987):

Herstellung und Charakterisierung monoklonaler Antikörper gegen T-Lymphozyten des Huhnes.

Vet. Med. Diss., Gießen

HOEHNE, F.C. (1939):

Plantas e substâncias tóxicas e medicinais.

Graphics, São Paulo, Rio de Janeiro.

HUMMEL, G. (1985):

Zytoarchitektonik des Tegmentum mesencephali von Schafe und Ziege (Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen).

Verlag der Ferber'schen Universitätsbuchhandlung, Giessen

HUXTABLE, C.R.; DORLING, P.R.; WALKLEY, U. (1982):

Onset and regression of neuroaxonal lesions in sheep with mannosidosis induced experimentally with swainsonine

Acta Neuropathol. (Berl.) **58**: 27-33

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (1997):

Censo agropecuário de 1995-1996.

IBGE, Rio de Janeiro. Nr 1.

IDRIS, O.F.; TARTOUR, G.; ADAM, S.E.I.; OBEID, H.M. (1973):

Toxicity to goats of *Ipomoea carnea*.

Trop. Anim. Hlth. Prod. **5**: 119-123

JAMES, L.F.; SHUPE, J.L.; BINNS, W.; KEELER, R.F. (1967):

Abortive and teratogenic effects of locoweed on sheep and cattle.

Am. J. Vet. Res. **28**(126): 1379-1388

JAMES, L.F.; VAN KAMPEN, K.R.; HARTLEY, W.J. (1970a):

Comparative pathology of *Astragalus* (locoweed) and *Swainsona* poisoning in sheep.

Pathol. Vet. **7**: 116-125

JAMES, L.F.; VAN KAMPEN, K.R.; EARL JOHNSON, A. (1970b):

Physiopathologic changes in locoweed poisoning of livestock.

Am. J. Vet. Res. **31**(4): 663-672

JAMES, L.F.; HARTLEY, W.J.; NIELSEN, D.; ALLEN, S.; PANTER, K.E. (1986):

Locoweed (*Oxytropis sericea*) poisoning and congestive heart failure in cattle.

JAVMA, **189**(12): 1549-1556

JAMES, L.F.; NIELSEN, D. (1988):

Locoweeds: Assessment of the problem on western U.S. rangelands. In: James, L.F.; Ralphs, M.H.; Nielsen, D. (eds). The ecology and economic impact of poisonous plants on livestock production. Westview Press, Boulder, C.O.

JAMES, L.F.; PANTER, K.E. (1989):

Locoweed poisoning in livestock.

In: James, L.F.; Elbein, A.D.; Molyneux, R.J.; Warren, C.D. (eds). Swainsonine and related glycosidase inhibitors. pp 23-37. Iowa State University Press / Ames

JAMES, L.F.; ELBEIN, A.D.; MOLYNEUX, R.J.; WARREN, C.D., eds. (1989):

Swainsonine and related glycosidase inhibitors.  
504 pp. Iowa State University Press / Ames.

JOLLY, R.D. (1971):

The pathology of the central nervous system in pseudolipidosis of Angus calves.

J. Pathol. **103**: 113-121

JOLLY, R.D. (1978):

Manosidosis and its control in Angus and Murray Grey cattle.

N.Z. Vet. J. **26**: 194-198

JOLLY, R.D. (1993):

Lysosomal storage disease in livestock.

Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. **9**: 41-53

JOLLY, R.D.; THOMPSON, K.G.; BAYLISS, S.L.; VIDLER, B.M.; ORR, M.B.; HEALY, P.J. (1990):

$\beta$ -Mannosidosis in a Salers calf: a new storage disease of cattle.

N.Z. Vet. J. **38**: 102-105

JOLLY, R.D.; WALKLEY, S.U. (1997):

Lysosomal storage diseases of animals: an essay in comparative pathology.

Vet. Pathol. **34**: 527-548

JONES, M.Z.; DAWSON, G. (1981):

Caprine  $\beta$ -mannosidosis.

J. Biol. Chem. **266**: 5185-5188

VAN KAMPEN, K.R.; JAMES, L.F. (1969):

Pathology of locoweed poisoning in sheep.

Pathol. Vet. **6**: 413-423

VAN KAMPEN, K.R.; JAMES, L.F. (1970):

Pathology of locoweed (*Astragalus lentiginosus*) poisoning in sheep.

Pathol. Vet. **7**: 503-508

KINGSBURY, J.M. (1964):

Poisonous plants of United States and Canada.

pp 306-313. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, NJ

KORNFELD, R.; KORNFELD, S. (1985):

Assembly of asparagine-linked oligosaccharides.

Annu. Rev. Biochem. **54**: 631-664

KORNFELD, S. (1986):

Trafficking of lysosomal enzymes in normal and disease states.

J. Clin. Invest. **77**:1-6

LAGERON, A. (1987):

Characterization by lectin binding of the sugar moiety of glycoconpounds stored in inherited diseases.

Histochemical J. **19**: 419-425

DE LAHUNTA; A (1980):

Diseases of the cerebellum.

Vet. Clin. North. Am. Small Anim. Pract. **10**: 91-101

DE LAHUNTA; A (1983):

Veterinary neuroanatomy and clinical neurology.

471 pp. 2<sup>nd</sup> Ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia.

LAWS, L.; SAAL, J.R. (1968):

Lipidosis of the hepatic reticuloendothelial cells in a sheep.

Aust. Vet. J. **44**: 416-417

LEMMER, B. (1977):

Vergleichende histologische und elektronenmikroskopische Untersuchungen der Brücke bei Rind, Schaf und Ziege.

Vet. Med. Diss., Gießen

LIS, H.; SHARON, N. (1986):

Lectins as molecules and as tools.

Annu. Rev. Biochem. **55**: 35-67

LOTAN, R.; SHARON, N. (1978):

Peanut (*Arachis hypogaea*) agglutinin.

Meth. Enzymol. **50**: 361- 367

MACEDO, J.N. (1952):

Fazendas de gado no Vale do São Francisco.

Serviço de Informação Agrícola, Ministério da Agricultura, Rio de Janeiro.

MANKTELOW, B.W.; HARTLEY, W.J. (1975):

Generalized glycogenosis storage disease in sheep.

J. Comp. Pathol. **85**: 139-145

MANNOJI, H.; YEGER, H. BECKER, L. E. (1986):

A specific histochemical marker (lectin Ricinus communis agglutinin-1) for normal human microglia, and application to routine histopathology.

Acta Neuropathol. (Berl.) **71**: 84-92

MARSH, C.D. (1909):

USDA Bur. Animal Industry Bull. pp.112

MATZURA, F.; JONES, M.Z.; FRAZIER, S.E. (1983):

Structural analysis of the major caprine  $\beta$ -mannosidosis urinary oligosaccharides.

Biochem. Biophys. Acta **759**: 67-73

MENZIES, J.S.; BRIDGES, C.H.; BAILEY, E.M.Jr. (1979):

A neurological disease of cattle associated with *Solanum dimidiatum*.

Southwest Vet. **32**: 45-49

MOLYNEUX, R.J.; JAMES, L.F. (1982):

Loco intoxication: indolizidine alkaloid of spotted locoweed (*Astragalus lentiginosus*).

Science **216**: 190-191

MOLYNEUX, R.J.; JAMES, L.F.; PANTER, K.E.; RALPHS, M.H. (1989):

The occurrence and detection of Swainsonine in Locoweeds.

In: James, L.F.; Elbein, A.D.; Molyneux, R.J.; Warren, C.D. (eds).  
Swainsonine and related glycosidase inhibitors. pp.100-117. Iowa State  
University Press / Ames

MOLYNEUX, R.J.; PAN, Y.T.; GOLDMANN, A.; TEPFER, D.A.; ELBEIN, A.D.  
(1993):

Calystegine, a novel class of alkaloid glycosidase inhibitors.

Arch. Biochem. Biophys. **304**(1): 81-88

MOLYNEUX, R.J.; JAMES, L.F.; RALPHS, M.H.; PFISTER, J.A.; PANTER, K.E.;  
NASH, R.J. (1994):

Polyhydroxy alkaloid glycosidase inhibitors from poisonous plants of  
global distribution: analysis and identification.

In: Colegate, S.M.; Dorling, P.R. (eds). Plant-associated toxins,  
agricultural, phytochemical and ecological aspects. Pp. 107-112. Cab  
International,

MOLYNEUX, R.J.; McKENZIE, R.A.; O'SULLIVAN, B.M.; ELBEIN, A.D. (1995):

Identification of the glycosidase inhibitors swainsonine and calystegine  
B2 in weir vine (*Ipomoea* sp. Q6 [aff. *calobra*]) and correlation with  
toxicity.

Journal of Natural Products **58**(6): 878-886

MONSIGNY, M.; ROCHE, A.-C.; SENE, C.; MANGET-DANA, R.; DELMOTTE, F.  
(1980):

Sugar-lectin interactions: How does wheat-germ agglutinin bind  
sialoglycoconjugates?

Eur. Biochem. **104**: 147-153

MOREMEN, K.W.; TOUSTER, O. (1985):

Biosynthesis and modification of Golgi  $\alpha$ -Mannosidase II in HeLa and 3T3 cells.

J.Biol. Chem. **260**(11): 6654-6662

MOVIKOFF, P.M.; TULSIANI, D.R.P.; TOUSTER, O.; YAM, A.; MOVIKOFF, A. (1983):

Immunocytochemical localization of  $\alpha$ -D-mannosidase II in the Golgi apparatus of rat liver.

Cell Biology **80**: 4364-4368

MÜLLER, J. (1984):

Brasilien: Länderprofile - Geographische Strukturen, Daten, Entwicklungen. pp. 11-20. Ernst Klett Verlag, Stuttgart

NATH, I.; PATHAK, D.C. (1995a):

Induced *Ipomoea carnea* toxicity in goats: clinical and pathomorphological studies.

Indian Journal of Veterinary Pathology **19**(1): 19-21

NATH, I.; PATHAK, D.C. (1995b):

Induced *Ipomoea carnea* toxicity in goats: clinical and pathomorphological studies.

Indian Journal of Veterinary Pathology **20**(1): 50-52

NEIVA, A.; PENNA, B. (1916):

Viajem científica pelo Norte da Bahia, Sudoeste de Pernambuco, Sul do Piauhí e Norte a Sul de Goiaz.

Mem. Inst. Oswaldo Cruz **8**(3): 74-224

NEUFELD, E.F. (1991):

Lysosomal storage disease.

Annu. Rev. Biochem. **60**: 257- 280

NILSSON, T.; PYPAERT, M.; HOE, M.H.; SLUSAREWICZ, P.; BERGER, E.G.;  
WARREN, G. (1993):

Overlapping distribution of two glycosyltransferases in the Golgi apparatus of HeLa cells.

J. Cell Biol. **120**(1): 5-13

NOMINA ANATOMICA VETERINARIA, 4<sup>th</sup> ed., NOMINA HISTOLOGICA, 2<sup>nd</sup> ed.,  
and NOMINA EMBRYOLOGICA VETERINARIA (1994):

Systema Nervosum: 106-132

O'SULLIVAN, B.M.; HEALY, P.J.; FRASER, I.R.; NIEPER, R.E.; WHITLE, R.J.;  
SEWELL, C.A. (1981):

Generalized glycogenosis in Brahman cattle.

Aust. Vet. J. **57**: 227-229

PALMER, D.G.; DORLING, P.R.; HOWELL, J.M. (1994):

Bovine glycogenosis type II: the molecular defect in Shorthorn cattle.

Neuromuscul. Disord. **4**: 39-48

PIENAAR, J.G.; KELLERMANN, T.S.; BASSON, P.A.; JENKINS, W.L.;  
VAHRMEIJER, J. (1976):

Maldronksiekte in cattle: a neuronopathy caused by *Solanum kwebense*  
N.E. Br.

Onderstepoort J. Vet. Res. **43**(2): 67-74

POMPEIANO, O. (1967):

Functional organization of the cerebellar projections to the spinal cord.

In: Fox, C. A.; Snider, R. S. (eds.) The cerebellum. Vol 25, pp 282- 321.

Progress in brain research, Elsevier Publishing Company, Amsterdam

PRITCHARD, D.H.; NAPHTHINE, D.V.; SINCLAR, A.J. (1980):

Globoid cell leucodistrophy in polled Dorset sheep.

Vet. Pathol. **17**: 399-405

PURPURA, D.K.; SUZUKI, K. (1976):

Distortion of neuronal geometry and formation of aberrant synapses in neuronal storage disease.

Brain Res. **116**: 1-21

RICHARDS, R.B.; EDWARDS, J.R.; COOK, R.D.; WHITE, R.R. (1977):

Bovine generalized glycogenosis.

Neuropathol. Appl. Neurobiol. **3**: 45-56

RALPHS, M.H.; MOLYNEUX, R.J. (1989):

Livestock grazing Locoweed and the influence of Swainsonine on Locoweed palatability and habituation.

In: James, L.F.; Elbein, A.D.; Molyneux, R.J.; Warren, C.D. (eds). Swainsonine and related glycosidase inhibitors. pp. 23-37. Iowa State University Press / Ames

REASOR, M.J. (1989):

A review of the biology and toxicologic implications of the induction of lysosomal lamellar bodies by drugs.

Toxicol. Appl. Pharmacol. **97**: 47-56

REICHMANN, K.G.; TWIST, J.; MCKENZIE, R.A.; ROWAN, K.J. (1989):

Inhibition of alpha-glucosidase by *Castanospermum australe* and its effect on the biochemical identification of heterozygotes for generalized glycogenosis type II (Pompe's disease) in cattle.

Aust. Vet. J. **64**(9): 274-276

REICHMANN, K.G.; TWIST, J.; MCKENZIE, R.A. (1989):

Inhibition of alpha-glucosidase in cattle by *Castanospermum australe*: an attempted phenocopy of Pompe's disease.

Aust. Vet. J. **66**(3): 86-89

RIET-CORREA, F.; MÉNDEZ, M.D.C.; SCHILD, A.L.; SUMMERS; B.A.; OLIVEIRA, J.A. (1983):

Intoxication by *Solanum fastigiatum* var. *fastigiatum* as a cause of cerebellar degeneration in cattle.

Cornell Vet. **73**: 240-256

ROMEIS, B. (1989):

Mikroskopische Technik.

697 pp. 17. Auflage. Urban & Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore

ROTH, J.; TAATJES, D.; WEINSTEIN, J.; PAULSON, J.C.; GREENWELL, P.; WATKINS, W.M. (1986):

Differential subcompartmentation of terminal glycosylation in the Golgi apparatus of intestinal absorptive and Goblet cells

J. Biol. Chemistry **261**(30): 14307-14312

SUMMERS, B.A.; CUMMINGS, J.F.; DE LAHUNTA, A. (1995):

Veterinary neuropathology.

527 pp. Mosby, St. Louis.

SCRIVER, C.R.; BEAUDET, A.L.; SLY, W.S.; VALLE, D. (1995).

The metabolic and molecular bases of inherited disease.

pp. 2427-2879. 7<sup>th</sup> McGraw-Hill, New York, NY

SCHMIDT, H.; GONÇALVES-LINS, R. (1956):

„O canudo nas margens do Rio São Francisco“: Preliminares sobre seu controle com herbicidas.

Posto de Colonização de Petrolina, Pernambuco.

SHEANHAN, R.J.; DONNELLY, W.J.C. (1974):

Enzyme histochemical alterations in brain of Friesian calves with G<sub>M1</sub> gangliosidosis.

Acta Neuropathol. (Berl.) **30**: 73-74

SKELLY, B.J.; JEFFREY, M.; FRANKLYN, J.M.; WINCHESTER, B.G. (1995):

A new form of ovine G<sub>M1</sub> gangliosidosis.

Acta Neuropathol. (Berl.) **89**: 374-379

VON SOLODKOFF, M. (1986):

Kerngebiete der VI. bis VIII. Gehirnnerven von Schaf und Ziege: Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen.

Vet. Med. Diss., Gießen

SRILATHA, C.; GOLPA-NAIDU, N.R.; RAMA-RAO, P. (1993a):

Haematological and biochemical studies in *Ipomoea carnea* plant toxicity in goats.

J. Vet. Anim. Sciences. **24**: 201-202

SRILATHA, C.; GOLPA-NAIDU, N.R.; RAMA-RAO, P. (1993b):

Symptomatology of *Ipomoea carnea* plant toxicity in goats.

J. Vet. Anim. Sciences. **24**: 201-202

STEINBACH, W. (1978):

Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen des Kleinhirns von Rind, Schaf und Ziege.

Vet. Med. Diss., Gießen

STEGELMEIER, B.L.; MOLYNEUX, R.J.; ELBEIN, A.D.; JAMES, L.F. (1995):

The lesions of locoweed (*Astragalus mollissimus*), Swainsonine, and Castanospermine in Rats.

Vet. Pathol. **32**: 289-298

STEGELMEIER, B.L.; RALPHS, M.H.; GARDNER, D.R.; MOLYNEUX, R.J.; JAMES, L.F. (1994):

Serum  $\alpha$ -mannosidase activity and the clinicopathologic alterations of locoweed (*Astragalus mollissimus*) intoxication in range cattle.

J.Vet. Diagn. Invest. **6**: 473-479

STEGELMEIER, B.L.; JAMES, L.F.; PANTER, K.E.; MOLYNEUX, R.J. (1995):

Serum swainsonine concentration and  $\alpha$ -mannosidase activity in cattle and sheep ingesting *Oxytropis serica* and *Astragalus lentiginosus* (locoweeds).

Am. J. Res. **56**(2): 149-154

STEGELMEIER, B.L.; JAMES, L.F.; MOLYNEUX, R.J.; PFISTER, J.A. (1999):

The pathogenesis and toxicokinetics of Locoweed (*Astragalus* and *Oxytropis* spp.) poisoning in livestock.

J. Natural Toxin. **8**(1): 35-45

STOLF, L. (1986):

Intoxicação experimental por *Vernonia mollissima* (Compositae) em caprinos.

Vet. Med. Diss., Rio de Janeiro

STÖRMER, R. (1985):

Kerngebiete der IX. bis XII. Gehirnnerven von Schaf und Ziege: Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen.

Vet. Med. Diss., Gießen

SUZUKI, K.; SUZUKI, Y.; SUZUKI, K. (1995):

Galactosylceramide lipidosis: Globoid-cell Leucodystrophy (Krabbe disease).

In: Scriver, C.R.; Beaudet, A.L.; Sly, W.S.; Valle, D. (eds). The metabolic and molecular bases of inherited disease. pp. 2671-2691. 7<sup>th</sup> McGraw-Hill, New York, NY

TARTOUR, G.; ADAM, S.E.I.; OBEID, H.M.; IDRIS, O.F. (1973):

Haematological changes in sheep and calves following prolonged oral administration of *Ipomoea carnea*.

Trop. Anim. Hlth. Prod. **5**: 284-292

TARTOUR, G.; ADAM, S.E.I.; OBEID, H.M.; IDRIS, O.F. (1974):

Development of anemia in goats fed with *Ipomoea carnea*.

Br. Vet. J. **130**: 271-279

TEPFER, D.A.; GOLDMANN, A.; PAMBOUKDJIAN, N.; MAILLE, M.; LEPINGLE, A.; CHEVALIER, D.; DÉNARIÉ, J.; ROSENBERG, C. (1988):

A plasmid of *Rhizobium meliloti* 41 encodes catabolism of two compounds from root exsudate of *Calystegium sepium*.

J. Bacteriology **170**(3): 1153-1161

THOMAS, G.H.; BEAUDET, A.L. (1995):

Disorders of glycoprotein degradation and structure:  $\alpha$ -mannosidosis,  $\beta$ -mannosidosis, fucosidosis, sialodosis, aspartylglucosaminuria and carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome.

In: Scriver, C.R.; Beaudet, A.L.; Sly, W.S.; Valle, D. (eds). The metabolic and molecular bases of inherited disease. pp. 2529-2561. 7<sup>th</sup> McGraw-Hill, New York, NY

THOMPSON, J.N.; JONES, M.Z.; DAWSON, G.; HUFFMAN, P.S. (1992):

*N*-acetylglucosamine 6-sulfatase deficiency in a Nubian goat: A model of Sanfilippo syndrome type D (mucopolysaccharidosis IIID).

J. Inherited Metab. Dis. **15**: 760-768

TIRKEY, K.; YADAVA, K.P.; JHA, G.J.; BANERJEE, N.C. (1987):

Effect of feeding *Ipomoea carnea* leaves on goats.

Indian J. Animal Sciences **57**(8): 863-866

TOKARNIA, C.H.; DÖBEREINER, J.; CANELLA, C.F.C. (1960):

Estudo experimental sobre a toxidez do "canudo" (*Ipomoea fistulosa* Mart.) em ruminantes.

Arq. Inst. Bio. Animal. **3**: 59-71

TOKARNIA, C.H.; DÖBEREINER, J.; FREITAS da SILVA, M. (1979):

Plantas tóxicas da Amazônia a bovinos e outros herbívoros.

95 pp. CNPq, INPA, Manaus

TOKARNIA, C.H.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P.V. (1995):

Poisonous plants of Brazil.

In: James, L. F.; Keeler, R.F.; Bailey, E.M.Jr.; Cheeke, P.R.; Hegarty, M.P. (eds). Poisonous plants. pp. 63-73. Proceedings of the third International Symposium. Iowa State University Press / Ames

TULSIANI, D.R.P.; TOUSTER, O. (1982):

Swainsonine inhibits the biosynthesis of complex glycoproteins by inhibition of Golgi mannosidase II.

J. Biol. Chem. **257**(14): 7936-7939

TULSIANI, D.R.P.; HARRIS, T.M.; TOUSTER, O. (1983):

Swainsonine causes the production of hybrid glycoproteins by human skin fibroblasts and rat liver golgi preparations.

J. Biol. Chem. **258**(12): 7578-7585

TULSIANI, D.R.P.; BROQUIST, H.P.; JAMES, L.F.; TOUSTER, O. (1984):

The similar effects of swainsonine and locoweed on tissue glycosidases and oligosaccharides of the pig indicate that the alkaloid is the principal toxin responsible for the induction of locoism.

Arch. Biochem. Biophys. **232**(1): 76-85

TULSIANI, D.R.P.; BROQUIST, H.P.; TOUSTER, O. (1985):

Marked differences in the Swainsonine inhibition of rat liver lysosomal  $\alpha$ -D-Mannosidase, rat liver Golgi Mannosidase II, and Jack Bean  $\alpha$ -D-Mannosidase.

Arch. Biochem. Biophys. **236**(1): 427-434

TULSIANI, D.R.P.; TOUSTER, O. (1987):

Substrate specificities of rat kidney lysosomal and cytosolic  $\alpha$ -D-mannosidases and effects of swainsonine suggest a role of the cytosolic enzyme in glycoprotein catabolism.

J. Biol. Chem. **262**(14): 6506-6514

TULSIANI, D.R.P.; BROQUIST, H.P.; JAMES, L.F.; TOUSTER, O. (1988):

Production of hybrid glycoproteins and accumulation of oligosaccharides in the brain of sheep and pigs administered swainsonine or locoweed.

Arch. Biochem. Biophys. **264**(2): 607-617

TULSIANI, D.R.P.; BROQUIST, H.P.; JAMES, L.F.; TOUSTER, O. (1989):

Locoweed- and swainsonine-induced production of hybrid glycoproteins and oligosaccharides in brain.

In: James, L.F.; Elbein, A.D.; Molyneux, R.J.; Warren, C.D. (eds). Swainsonine and related glycosidase inhibitors. pp. 188- 201. Iowa State University Press / Ames

TULSIANI, D.R.P.; TOUSTER, O. (1992):

Evidence that swainsonine pretreatment of rats leads to the formation of autophagic vacuoles and endosomes with decreased capacity to mature to, or fuse with, active lysosomes.

Arch. Biochem. Biophys. **296**(2): 556-561

VANDEVELDE, M.; FANKHAUSER, R. (1987):

Einführung in die veterinärmedizinische Neurologie.

286 pp. Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg.

VERKRUYSE, L.A.; HOFMANN, S.L. (1996):

Lysosomal targeting of palmitoyl-protein thioesterase.

J. Biol. Chem. **271**: 15891-15896

VESA, J.; HELLSTEN, E.; VERKRUYSE, L.A.; CAMP, L.A.; RAPOLA, J.; SANTAVUORI, P.; HOFMANN, S.L.; PELTONEN, L. (1995)

Mutations in the palmitoyl-protein thioesterase gene causing infantile neuronal ceroid lipofuscinosis.

Nature **376**: 558-587

WALKLEY, S.U.; BLAKEMORE, W.F.; PURPURA, D.K. (1981a):

Alterations in neuron morphology in feline mannosidosis: A Golgi study.

Acta Neuropathol. **53**: 75-79

WALKLEY, S.U.; WURZEMANN, S.; PURPURA, D.K. (1981b):

Ultrastructure of neurites and meganeurites of cortical pyramidal neurons in feline gangliosidosis as revealed by combined Golgi-EM technique.

Brain Res. **211**: 393-398

WALKLEY, S.U.; SIEGEL, D.A. ; WURZEMANN, S. (1988):

Ectopic dendritogenesis and associated synapse formation in swainsonine-induced neuronal storage disease.

J.Neuroscience **8**(2): 445-457

WALKLEY, S.U.; SIEGEL, D.A. (1989):

Comparative studies of the CNS in swainsonine-induced and inherited feline  $\alpha$ -mannosidosis.

In: James, L.F.; Elbein, A.D.; Molyneux, R.J.; Warren, C.D. (eds). Swainsonine and related glycosidase inhibitors. pp. 57-75. Iowa State University Press / Ames

WALKLEY, S.U.; BAKER, H.J.; RATTAZZINI, M.C.; HASKINS, M.E.; WU, J.-Y. (1991):

Neuronaxonal dystrophy in neuronal storage disorders: evidence for major GABAergic neuron involvement.

Journal of the Neurological Sciences **104**: 1-8

WALKLEY, S.U. (1995):

Pyramidal neurons with ectopic dendrites in storage disease exhibit increased G<sub>M2</sub> ganglioside immunoreactivity.

Neuroscience **68**: 1027-1035

WALKLEY, S.U. (1998):

Cellular pathology of lysosomal storage disorders.

Brain Pathology **8**: 175-193

YOSHIKAWA, T. (1968):

Atlas of the brains of domestic animals. III. The brain of the goat, transverse sections.

University of Tokyo Press, Tokyo.

ZAKIR, M.D.; VADLAMUDL, V.P.; MORE, P.R., (1989):

Some blood biochemical changes in *Ipomoea carnea* toxicity in Osmanabadi Goats.

J. Maharashtra agric. Univ. **14**(1): 126-127

## 8 ANHANG

### 8.1 Tabellen

Tab. 6: Neurologische Störungen der Ziegen mit spontaner *Ipomoea fistulosa*-Vergiftung (n=8)

Ziege (Reg.Nr.)	5113	5114	5115	5116	5117	5118	5119	5123
<b>Bewußtsein / Verhalten</b>								
Apathie	+++	/	/	/	/	/	/	++
„Betrunkenere“ Zustand	+++	+	/	/	/	/	/	++
Kopfschütteln und Ohrenkratzen	+	/	/	/	/	+	/	/
<b>Bewegungsablauf</b>								
Schwankende Bewegung	+	++	+	+	+++	/	/	+++
Hypermetrie	/	++	+	+	/	/	+	++
Dysmetrie	/	++	/	/	/	/	+	+++
Intentionstremor des Kopfes	+	+	/	/	+	+	/	+++
Tremor der Gliedmassen	/	++	/	/	+	/	/	/
Störungen der kontralateral-alternierenden Schrittfolge	/	+++	+	+	/	/	+	++
Paraparese	+++	+++	+	/	+	++	/	+++
<b>Haltungs- und Stellreaktion</b>								
Breitbeiniger Stand	/	+	/	/	/	/	/	+++
Hypertonie Hals und Gliedmassen	+	+++	+	/	++	+	+	/
Dorsoflexion des Kopfes	+	+	/	/	++	/	/	/
Stellreaktionen	/	++	/	/	/	/	/	+++
„Aufsteh-Prüfung“	---	-	---	-	---	--	-	nu
<b>Spinale Reflexe</b>								
Patellarreflex	---	++	--	/	--	---	--	nu
Pannikulusreflex	---	+	-	/	-	+/-	+	+++
Schmerzempfindung	---	--	/	/	/	/	/	/
Kopfnervenfunktionen								
Pupillarreflexe	---	/	/	/	/	/	/	nu

/ =nicht beobachtet, - =geringgradig reduziert, - - =mittelgradig reduziert; - - - =hochgradig reduziert; + =geringgradig erhöht; + + =mittelgradig erhöht; + + + =hochgradig erhöht; nu= nicht untersucht

**Tab. 7: Experimentelle Intoxikation mit *Ipomoea fistulosa* bei Ziegen (n=14)**

Ziege Reg.Nr.	Gewicht- abnahme des Anfangs- gewichtes (%)	Durch- schnittliche Futtermenge (g/kg KM/Tag)	Futterpräferenz	Durch- schnittliche Dosis von <i>I. fistulosa</i> (g/kg KM/ Tag)	Todestag nach Beginn der Fütterung	Auftreten der ersten klinischen Symptome (Tag)
<b>Gruppe 1</b>						
5079	26	13,2	-	13,2	61 <sup>3</sup>	26
5069	37	14,9	-	14,9	70 <sup>2</sup>	24
5070	35	14,5	-	14,5	105 <sup>2</sup>	22
<b>Gruppe 2</b>						
5082	6	18,3	indifferent	7,5	21 <sup>4</sup>	-
5081	6	19,3	<i>P. purpureum</i>	8,5	30 <sup>4</sup>	-
5080	8	16,1	indifferent	6,1	40 <sup>3</sup>	28
5075	22	13,5	indifferent	5,7	53 <sup>2</sup>	41
5072	48	15,4	<i>P. purpureum</i>	5,2	77 <sup>2</sup>	42
5071	7	25,3	<i>P. purpureum</i>	8,6	88 <sup>2</sup>	41
<b>Gruppe 3</b>						
5076	0	21,7	<i>I. fistulosa</i>	5,1	53 <sup>3</sup>	40
5074	30	18,3	indifferent	3,7	64 <sup>3</sup>	38
5073	9	23,4	<i>I. fistulosa</i>	4,7	83 <sup>1</sup>	25
<b>Gruppe 4</b>						
5024	0	Weidehaltung	-	0	-	-
5067	19	25,4	-	0	-	-

<sup>1</sup> spontaner Tod

<sup>2</sup> Euthanasiert im moribunden Zustand

<sup>3</sup> Euthanasiert mit ausgeprägten neurologischen Symptomen

<sup>4</sup> Euthanasiert ohne Symptome

**Tab. 8: Stärkegrad neurologischer Störungen bei Ziegen mit experimenteller *Ipomoea fistulosa*-Vergiftung; Zeitraum zwischen dem 50. - 65. Versuchstag (n=9)**

Ziege	5075	5076	5079	5074	5069	5072	5073	5071	5070
Todestag	53	53	61	64	70	77	83	88	105
<b>Bewußtsein / Verhalten</b>									
Apathie	+++	/	/	+++	++	+	+++	+	++
Exzitation	/	++	/	/	/	++	/	++	/
„Betrunkenere“ Zustand	/	/	++	+++	+++	++	+++	+++	+++
Halluzinationsähnliche Symptome	/	/	/	/	/	/	+	++	+++
Kopfschütteln und Ohrenkratzen	/	/	+	+	+	/	+	+	+
<b>Bewegungsablauf</b>									
Schwankende Bewegung	/	++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++
Hypermetrie	/	++	++	/	+++	+++	+	+	++
Dysmetrie	/	++	/	/	+	+++	+	+	+
Intentionstremor des Kopfes	/	+	+	+	++	+	+	+	+
Tremor der Gliedmassen	/	++	+++	/	/	+++	/	/	/
Störung der kontralateral-alternierenden Schrittfolge	/	++	+++	+	/	+++	+	++	+
Umfallen bei Drohbewegung	/	/	+++	/	+++	/	+++	+++	+++
Hemiparese	/	/	/	/	+	/	+	/	/
Paraparese	/	/	++	++	+++	+++	+++	++	+++
Tetraparese	+++	/	/	/	++	/	/	+	+
<b>Haltungs- und Stellreaktionen</b>									
Breitbeiniger Stand	/	+	+++	/	+++	+++	++	+++	+
Hypertonie Hals und Gliedmassen	+++	+	++	/	+++	+++	+++	+	+
Dorsoflexion des Kopfes	+++ <sup>1</sup>	/	+++	/	+++	+++	+++	+++	+++
Stellreaktionen	---	+	+++	+	+++	+++	++	++	++
„Aufsteh-Prüfung“	---	-	---	-	-	---	-	---	---
<b>Spinale Reflexe</b>									
Patellarreflex	---	++	++/-	--	---	+++/-	--	+	+/-
Pannikulusreflex	+++/-	++	++/-	/	---	+++	+	++	--
Schmerzempfindung	---	++	++	/	+++	+++	+++	+	+++
Myoklonus	+++	+	+	+	/	/	+	/	+
<b>Kopfnerfunktionen</b>									
Pupillarreflex	/	/	---	/	/	/	/	/	/
Strabismus	+++	/	/	/	+	/	+	/	/
Abnormer Nystagmus	/	/	/	/	+	+++	/	+	+++

/ = nicht beobachtet, - = geringgradig reduziert, -- = mittelgradig reduziert; --- = hochgradig reduziert; + = geringgradig erhöht; ++ = mittelgradig erhöht; +++ = hochgradig erhöht. <sup>1</sup> hochgradiger Torticollis

**Tab. 9: Chronologie des ersten Auftretens neurologischer Symptome bei der experimentellen *Ipomoea fistulosa*-Vergiftung (n=12)**

Ziege	5082	5081	5080	5075	5076	5079	5074	5069	5072	5073	5071	5070
Todestag	20	30	40	53	53	61	64	70	77	83	88	105
<b>Bewußtsein / Verhalten</b>												
Apathie	/	/	/	41	/	/	53	24	65	25	41	22
Exzitation	/	/	/	/	49	/	/	/	50	/	43	/
„Betrunkener“ Zustand	/	/	/	/	/	45	60	43	65	30	41	44
Halluzinationsähnliche Symptome	/	/	/	/	/	/	/	44	/	37	41	52
Kopfschütteln und Ohrenkratzen	/	/	37	44	49	26	38	44	42	37	50	44
<b>Bewegungsablauf</b>												
Schwankende Bewegung	/	/	39	47	44	26	47	39	49	37	41	44
Hypermetrie	/	/	39	/	44	26	/	39	45	43	41	49
Dysmetrie	/	/	/	/	44	/	/	43	51	44	41	52
Intentionstremor des Kopfes	/	/	/	/	43	37	51	43	57	30	45	55
Tremor der Gliedmassen	/	/	/	/	49	57	/	/	46	/	/	/
Störung der kontralateral-alternierenden Schrittfolge	/	/	/	/	40	51	61	/	56	43	52	62
Umfallen bei Drohbewegung	/	/	/	/	/	58	/	59	68	46	52	62
Hemiparese	/	/	/	47	/	/	/	51	/	39	87	/
Paraparese	/	/	28	43	49	37	44	39	65	30	50	43
Tetraparese	/	/	/	53	/	/	/	65	75	77	56	65
<b>Haltungs- und Stellreaktionen</b>												
Breitbeiniger Stand	/	/	/	/	49	51	/	43	64	43	41	44
Hypertonie Hals und Gliedmassen	/	/	/	51	44	43	/	39	42	46	45	43
Dorsoflexion des Kopfes	/	/	/	/	44	44	/	44	42	43	41	41
Stellreaktionen	/	/	/	47	44	43	59	44	42	46	50	55
„Aufsteh-Prüfung“	/	/	30	51	40	26	44	44	49	30	41	35
<b>Spinale Reflexe</b>												
Patellarreflex	/	/	/	47	50	61	49	58	57	55	55	62
Pannikulusreflex	/	/	/	44	49	44	/	58	57	37	55	62
Schmerzempfindung	/	/	/	53	53	61	/	59	50	51	64	37
Myoklonus	/	/	/	52	49	60	59	39	68	57	45	/
<b>Kopfnervenfunktionen</b>												
Pupillarreflex	/	/	/	/	/	60	/	/	68	43	79	69
Strabismus	/	/	/	53	/	/	/	39	76	55	/	/
Abnormer Nystagmus	/	/	/	/	/	/	/	39	49	37	41	52

/ =nicht beobachtet

Tab. 10: Stärkegrad neurologischer Störungen bei Ziegen mit experimenteller *Ipomoea fistulosa*-Vergiftung am Todestag

Ziege Todestag	5082 20	5081 30	5080 40	5075 53	5076 53	5079 61	5074 64	5069 70	5072 77	5073 83	5071 88	5070 105
<b>Bewußtsein / Verhalten</b>												
Apathie	/	/	/	+++	/	/	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Exzitation	/	/	/	/	++	/	/	/	/	/	/	/
„Betrunkenere“ Zustand	/	/	/	/	/	++	+++	/	/	+++	+++	+++
Halluzinationsähnliche Symptome	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
Kopfschütteln und Ohrenkratzen	/	/	++	/	/	+++	++	/	/	+	/	/
<b>Bewegungsablauf</b>												
Schwankende Bewegung	/	/	+	/	++	+++	+	/	/	/	/	/
Hypermetrie	/	/	+	/	++	+++	/	/	/	/	/	/
Dysmetrie	/	/	/	/	++	/	/	/	/	/	/	/
Intentionstremor des Kopfes	/	/	/	/	++	+	+	+	+	+	+	/
Tremor der Gliedmassen	/	/	/	/	++	++	/	/	/	/	/	/
Umfallen bei Drohbewegung	/	/	/	/	/	+++	/	/	/	/	/	/
Hemiparese	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	+++	/
Paraparese	/	/	+	/	++	++	+++	/	/	+++	/	/
Tetraparese	/	/	/	+++	/	/	/	+++	+++	++	++	+++
<b>Haltungs- und Stellreaktionen</b>												
Breitbeiniger Stand	/	/	/	/	+	+++	/	/	/	/	/	/
Hypertonie Hals und Gliedmassen	/	/	/	+++	++	++	/	+++	+++	/	+++	/
Dorsoflexion des Kopfes	/	/	/	+++ <sup>1</sup>	/	+++	/	+++	+++	+	+++	/
Stellreaktionen	/	/	/	---	+	+++	+	+++	+++	++	++	/
„Aufsteh-Prüfung“	/	/	-	---	-	---	-	---	---	---	---	---
<b>Spinale Reflexe</b>												
Patellarreflex	/	/	/	---	++	---	--	---	-	---	---	---
Pannikulusreflex	/	/	/	+++/-	++	++	/	---	---	++	---	---
Schmerzempfindung	/	/	/	---	++	++	/	---	/	/	---	---
Myoklonien	/	/	/	+++	+	/	+	-	/	--	--	/
<b>Kopfnerfunktionen</b>												
Pupillarreflexe	/	/	/	/	/	---	/	/	---	/	---	---
Strabismus	/	/	/	+++	/	/	/	+++	+++	/	+++	/
Abnormer Nystagmus	/	/	/	/	/	/	/	+++	+++	/	+++	+++

/ =nicht beobachtet, - =geringgradig reduziert, -- =mittelgradig reduziert; --- =hochgradig reduziert;

+ =geringgradig erhöht; ++ =mittelgradig erhöht; +++ =hochgradig erhöht. <sup>1</sup> hochgradiger Torticollis

Tab. 11: Im H.E.-Schnitt erkennbare zytoplasmatische Vakuolisierung bei spontaner und experimenteller Vergiftung durch *Ipomoea fistulosa* bei Ziegen (n=15)

Ziege		5113	5114	5123	5082	5081	5080	5075	5076	5079	5074	5069	5072	5073	5071	5070
Dosis (g/kg KM/Tag)		sV	sV	sV	7.5	8.5	6.1	5.7	5.1	13.2	3.7	14.9	5.2	4.7	8.6	14.5
Todestag					20	30	40	53	53	61	64	70	77	83	88	105
Organ	Zellen															
Gehirn	Neuronen	(+)h	++h	+h	++h	++h	++	+++	+++	+++	+++	+h	+++	+++	+++	+++
Pankreas	Azinus Zellen	+	+++	-	+	++	+++	+++	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	+++
Leber	Hepatozyten, Kupffer-Zellen	-	-	-	-	-	-	++	+	+	++	-	++	++	++	+++
Schilddrüse	Follikelzellen	-	-	nu	+	(+)	(+)h	(+)	+h	++	(+)	(+)	nu	+++h	(+)h	++h
Nebenniere	Rindenzellen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+h	+	(+)	+	+	+
Lymphknoten	Makrophagen	-	-	-	+	+cS	+	+h	+	(+)	++	(+)	+	(+)	+	++
Milz	Makrophagen	-	-	-	-	-	(+)	-	nu	(+)	+	-	-	-	nu	+
Hoden	Keimepithel	w	w	nu	w	w	w	w	+++	w	w	w	+++	+++	w	+++

sV= spontane Vergiftung; h= herdförmig; nu= nicht untersucht; cS= Ln. cervicalis superficialis; w= weiblich

**Tab 12: Im H.E.-Schnitt erkennbare zytoplasmatische Vakuolisierung verschiedener Gehirnggebiete bei spontaner und experimenteller Vergiftung von Ziegen durch *Ipomoea fistulosa* (n=15)**

Ziege	5013	5014	5123	5082	5081	5080	5075	5076	5079	5074	5069	5072	5073	5071	5070
Dosis (g/kg KM/Tag)	sV	sV	sV	7.5	8.5	6.1	5.7	5.1	13.2	3.7	14.9	5.2	4.7	8.6	14.5
Todestag				20	30	40	53	53	61	64	70	77	83	88	105
<b>Gehirnggebiet</b>															
Cortex cerebri	-	++	-	-	(+)	+ / ++	++	+ / ++	+ / ++	+ / ++	- / (+)	+ / ++	++	++	++
Corpus striatum	-	- / ++	-	-	- / +	- / ++	+ / ++	+ / ++	+ / ++	(+) / +++	- / +	(+) / ++	+ / ++	(+) / +++	+ / +++
Hippocampus	-	-	-	-	-	+	+ / ++	- / ++	- / +	- / ++	-	- / ++	nb	- / ++	+++
Corpus amygdaloideum	-	(+)	-	-	-	++	++	+	++	++	-	++	nu	++	++
Thalamus	-	- / ++	-	- / ++	- / ++	+ / +++	- / +++	- / +++	- / +++	+ / +++	-	- / +++	- / ++	+ / +++	+++ / +++
Tectum und Tegmentum mesencephali	-	- / +	-	-	- / +	(+) / ++	(+) / +	- / ++	- / ++	- / ++	- / +	- / ++	- / +	- / ++	- / ++
Cortex cerebelli	- / + <sup>1</sup>	- / ++	- / +++	- / +	- / ++	+ / +++	+ / +++	+++ / +++	(+) / +++	(+) / +++	- / +	+ / +++	+ / +++	+ / +++	+ / +++
Nucc. cerebelli	-	- / +	-	-	(+)	+	++	+++ / +++	+ / ++	+++ / +++	- / (+)	+ / ++	++	++	+++
Pons	-	- / +	-	-	- / +	- / +	- / ++	- / (+)	- / ++	(+) / ++	-	- / +	nu	- / +	- / ++
Medulla oblongata	-	- / ++	-	-	- / ++	- / ++	(+) / ++	- / ++	- / +	- / ++	-	- / +++	- / +++	- / ++	- / +++
Medulla spinalis	-	- / +	-	-	-	(+) / +	(+) / +	- / (+)	- / +	(+)	-	- / (+)	nb	-	+ / ++

<sup>1</sup> -/+ = minimale/maximale Ausprägung innerhalb dieser Gehirnggebiete; nb= nicht beurteilbar; nu= nicht untersucht

Tab. 13: Im H.E.-Schnitt erkennbare Sphäroide in verschiedenen Gehirngebieten bei spontaner und experimenteller Vergiftung von Ziegen durch *Ipomoea fistulosa* (n=15)

Ziege	5113	5114	5123	5082	5081	5080	5075	5076	5079	5074	5069	5072	5073	5071	5070	
Dosis(g/kg)	sV	sV	sV	7.5	8.5	6.1	5.7	5.1	13.2	3.7	14.9	5.2	4.7	8.6	14.5	
KM/Tag)				20	30	40	53	53	61	64	70	77	83	88	105	
Todestag																
Gehirngebiet																
Globus pallidus	-	-	-	-	-	-	-	(+)	(+)	-	-	+	+	+	++	
Nucc. thalami	-	-	-/+	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	-	-/+	-/+	
Substantia nigra	+	+	+	-	-	(+)	(+)	(+)	+	(+)	+	(+)	+	+	++	
Cortex cerebelli	-/+ <sup>1</sup>	-/+	-/+++	-	-	-	-/(+)	-/(+)	-/++	-/(+)	-/(+)	-/(+)	-/+	-/+	-/++	-/+++
Nucc. cerebelli	+ / ++	- / +	(+) / +	- / (+)	- / +	(+) / ++	++	+ / +	+ / ++	+ / ++	++	+ / ++	++ / +++	++	+ / ++	
Nucc. pontis	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	-	nu	+	
Nucc. vestibularis	- / +	- / (+)	- / +	-	-	- / (+)	- / +	(+) / +	- / +	- / ++	- / ++	- / ++	- / +	(+) / +	- / +	
Nuc. cuneatus	-	(+)	-	-	-	-	+ / ++	- / (+)	-	- / (+)	++	- / ++	++	+	++	
lateralis																
Nuc. olivaris	- / +	- / ++	-	-	-	-	- / +	-	- / (+)	-	- / +	++	- / ++	(+)	- / ++	
Medulla spinalis	- / +	-	-	-	-	-	- / (+)	-	-	- / (+)	- / +	- / (+)	-	-	- / +	

<sup>1</sup> -/+ = minimale/maximale Ausprägung innerhalb dieser Gehirngebiete; nu= nicht untersucht

Tab. 14: Im H.E.-Schnitt erkennbare Astrogliose in verschiedenen Gehirngebieten bei spontaner und experimenteller Vergiftung von Ziegen durch *Ipomoea fistulosa* (n=15)

Ziege	5013	5014	5123	5082	5081	5080	5075	5076	5079	5074	5069	5072	5073	5071	5070
Dosis (g/kg KM/Tag)	sV	sV	sV	7.5	8.5	6.1	5.7	5.1	13.2	3.7	14.9	5.2	4.7	8.6	14.5
Todestag				20	30	40	53	53	61	64	70	77	83	88	105
<b>Gehirngebiet</b>															
Globus pallidus	++	+	+	-	-	-	++	-/+	-/(+)	(+)/+	+++	++	-	-/+++	-/+++
Nucc. laterales thalami	-/+++ <sup>1</sup>	-/+	-	-	-	-	+ / ++	-/+	-/++	-/++	+ / +++	-/++	-/++	+ / ++	++
Substantia nigra	++	+	+	-	-	-	++	++	+	+	+++	++	++	+++	+++
Nucc. cerebelli	+	++	+	-	-	+	++	++	++	+++	+++	++	++	+++	+++
Nucc. vestibularis	+	+	-	-	-	-	+	+	-	++	+++	++	+	++	++

<sup>1</sup> -/+ = minimaeste/maximaeste Ausprägung innerhalb dieser Gehirngebiete

Tab. 15: Topographische Lokalisation der neuronalen Vakuolisierung bei spontaner und experimenteller Vergiftung von Ziegen durch *Ipomoea fistulosa* (n=15)

Ziege	5113	5114	5123	5082	5081	5080	5075	5076	5079	5074	5069	5072	5073	5071	5070	
Dosis (g/kg KM/Tag)	sV	sV	sV	7.5	8.5	6.1	5.7	5.1	13.2	3.7	14.9	5.2	4.7	8.6	14.5	
Todestag				20	30	40	53	53	61	64	70	77	83	88	105	
<b>GEHIRNGEBIETE</b>																
<b>Telencephalon</b>																
<b>Cortex cerebri</b>																
C. frontalis	-	++	-	-	(+)	++	++	++	++	+	(+)	++	++	++	++	
C. parietalis	-	++	-	-	(+)	++	++	++	++	++	(+)	++	++	++	++	
C. temporalis	-	++	-	-	(+)	+	++	+	+	++	(+)	++	++	++	++	
C. occipitalis	-	++	-	-	(+)	+	++	++	+	++	-	+	nu	++	++	
<b>Corpus striatum</b>																
Nuc. caudatus	-	++	-	-	-	(+)	+	(+)	+	+	-	+	+	+	++	
Nuc. accumbens	-	-	-	-	-	-	-	+	+	(+)	nu <sup>1</sup>	(+)	nb	(+)	+	
Nuc. lentiformis-Putamen	-	++	-	-	-	++	++	++	++	++	+	++	++	+++	+++	
Nuc. lentiformis-Pallidum	-	++	-	-	-	+	++	+	+	++	-	(+)	+	++	+++	
Clastrum	-	+	-	-	+	+	++	++	++	+++	(+)	++	++	++	+++	
<b>Rhinencephalon</b>																
<b>Hippocampus</b>																
Stratum moleculare	-	-	-	-	-	+	+	++	+	++	-	++	nb	++	+++	
Stratum granulosum	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	nb	-	+++	
Stratum subgranulare	-	-	-	-	-	+	++	+	-	++	-	-	nb	++	+++	
Gyrus parahippocampalis	-	-	-	-	-	(+)	+	+	-	++	-	-	nu	(+)	+	
Corpus amygdaloideum	-	(+)	-	-	-	++	++	+	++	++	-	++	nu	++	++	
<b>Diencephalon</b>																
<b>Thalamus</b>																
Nucc. rostrales	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	++	
Nucc. mediales	-	+	-	+	++	++	+++	++	++	++	-	++	++	++	+++	
Nucc. laterales																
Nuc. l. dorsalis	-	++	-	+	+	++	+++	+++	++	+	-	++	++	+++	+++	
Pulvinar	-	+	-	+	++	+++	++	++	++	++	-	++	++	++	+++	
Nuc. l. ventralis	-	+++	-	++	++	++	+++	+++	+++	+++	-	+++	++	+++	+++	
<b>Metathalamus</b>																
Nucc. geniculati	-	+	-	(+)	+	++	++	++	+	+	-	+	nb	+	++	
<b>Subthalamus</b>																
Zona incerta	-	+	-	-	-	++	++	+	++	++	-	++	nb	+	++	
Nucc. subthalamici	-	++	-	+	(+)	++	++	+	++	++	-	-	nb	++	++	
Nuc. endopeduncularis	-	-	-	-	-	+	++	-	+	-	-	-	nb	+	++	
<b>Hypothalamus</b>																
Nucc. hypothalami	-	-	-	-	-	+	(+)	-	-	-	-	-	nb	-	+	
Corpus mamillare	-	-	-	-	-	-	+	nu	-	-	-	-	nb	-	-	

(Fortsetzung)

Tab. 15: Topographische Lokalisation der neuronalen Vakuolisierung bei spontaner und experimenteller Vergiftung von Ziegen durch *Ipomoea fistulosa* (n=15)

Ziege	5113	5114	5123	5082	5081	5080	5075	5076	5079	5074	5069	5072	5073	5071	5070	
Dosis (g/kg KM/Tag)	sV	sV	sV	7.5	8.5	6.1	5.7	5.1	13.2	3.7	14.9	5.2	4.7	8.6	14.5	
Todestag				20	30	40	53	53	61	64	70	77	83	88	105	
<b>GEHIRNGEBIETE</b>																
<b>Mesencephalon</b>																
<i>Tectum mesencephali</i>																
Colliculus rostralis	-	-	-	-	(+)	+	(+)	(+)	(+)	++	-	(+)	nu	+	+	
Colliculus caudalis	-	-	-	-	(+)	++	(+)	nu	+	+	-	nu	nb	+	++	
<i>Tegmentum mesencephali</i>																
Substantia grisea centralis	-	-	-	-	-	(+)	(+)	(+)	+	+	+	(+)	nb	+	++	
Nuc. tr. mesencephalici n. trigemini	-	-	-	-	-	+	(+)	-	-	-	-	-	-	(+)	-	
Nuc. motorius n. oculomotorii	-	-	-	-	-	+	(+)	(+)	(+)	(+)	-	(+)	nb	(+)	-	
Nuc. parasympathicus n. oculomotorii	-	-	-	-	-	(+)	(+)	-	-	(+)	-	-	nb	+	-	
Nucc. tegmenti (Nuc. interstitieis)	-	-	-	-	-	(+)	(+)	+	+	+	-	+	nb	+	++	
Nuc. ruber	-	+	-	-	-	+	+	+	++	++	(+)	+	+	+	++	
Substantia nigra	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	(+)	nb	-	+	
Nuc. mesencephalicus profundus	-	-	-	-	-	(+)	(+)	nu	++	++	-	++	nu	++	-	
Nuc. lemnisci lateralis	-	-	-	-	-	(+)	+	(+)	(+)	++	-	-	nu	+	(+)	
Nuc. marginalis ped. cereb. rostralis	-	-	-	-	-	(+)	+	(+)	+	+	-	-	nu	+	nu	
Nuc. interpeduncularis	-	-	-	-	-	(+)	+	-	-	nu	-	-	nu	nu	-	
Formatio reticularis	-	+	-	-	(+)	(+)	+	(+)	+	+	-	+	nb	+	+	
<b>Metencephalon</b>																
Pons																
Pars dorsalis pontis																
Formatio reticularis	-	+	-	-	(+)	+	+	(+)	+	++	-	+	nu	+	+	
Nuc. tr. mesencephalici n. trigemini	-	-	-	-	-	-	-	(+)	++	(+)	-	-	nu	nu	nu	
Nuc. motorius n. trigemini	-	-	-	-	nu	nu	++	-	-	++	-	-	nu	-	-	
Nuc. sensibilis pontinus n. trigemini	-	-	-	-	nu	nu	+	(+)	nu	+	nu	nu	nu	(+)	++	
Nuc. coeruleus	-	-	-	-	-	nu	+	-	nu	+	-	+	nu	-	-	
Nuc. lemnisci lateralis	-	-	-	-	-	-	+	(+)	nu	nu	-	(+)	nu	-	(+)	
Nuc. dorsalis corporis trapezoidei	-	-	-	-	+	+	+	(+)	(+)	+	-	+	nu	+	++	
Pars ventralis pontis																
Nucc. pontis	-	-	-	-	+	+	+	-	(+)	+	-	+	nu	+	++	

(Fortsetzung)

Tab. 15: Topographische Lokalisation der neuronalen Vakuolisierung bei spontaner und experimenteller Vergiftung von Ziegen durch *Ipomoea fistulosa* (n=15)

Ziege	5113	5114	5123	5082	5081	5080	5075	5076	5079	5074	5069	5072	5073	5071	5070
Dosis (g/kg KM/Tag)	sV	sV	sV	7.5	8.5	6.1	5.7	5.1	13.2	3.7	14.9	5.2	4.7	8.6	14.5
Todestag				20	30	40	53	53	61	64	70	77	83	88	105
<b>GEHIRNGEBIETE</b>															
<b>Metencephalon</b>															
<b>Cortex cerebelli</b>															
<b>Vermis</b>															
Lobus rostralis															
Lingula cerebelli	(+)	(+)	++	(+)	(+)	+++	+++	++	+++	+++	-	+++	+++	++	+++
Lobulus centralis	(+)	+	+++	(+)	+	+++	+++	++	+++	+++	(+)	+++	+++	+++	+++
Culmen	+	(+)	+++	(+)	++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++
Lobus caudalis															
<b>Vermis</b>															
Declive	+	++	+++	+	++	++	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++
Folium vermis	-	+	+	+	+	++	+++	+++	+++	++	-	+++	+++	+++	+++
Tuber vermis	-	++	++	+	+	++	+++	++	++	++	-	+++	++	++	+++
Pyramis	-	++	+	+	++	++	++	+++	+++	+++	-	+++	+++	+++	+++
Uvula	-	+	(+)	+	+	++	++	++	++	+++	-	+++	++	++	+++
<b>Hemispherium cerebelli</b>															
Lobulus paramedianus	-	-	(+)	(+)	+	+	nu	nu	++	+	-	+	+	+	++
Lobulus ansiformis	-	+	+	(+)	(+)	++	+++	++	++	++	-	++	++	++	++
Paraflocculus	-	(+)	(+)	(+)	(+)	+	++	+	+	+	-	++	+	+	++
Lobus flocculonodularis															
<b>Vermis</b>															
Nodulus	-	nu	-	-	-	+	+	nu	(+)	++	-	++	+	+	++
<b>Hemispherium cerebelli</b>															
Flocculus	-	(+)	-	(+)	(+)	+	+	++	++	+	-	++	++	++	+
<b>Nucc. cerebelli</b>															
Nuc. fastigii	-	+	-	-	(+)	+	++	+++	++	+++	-	+	++	++	+++
Nucc. interpositi cerebelli	-	+	-	-	(+)	+	++	++	+	++	(+)	++	++	++	+++
Nuc. lateralis cerebelli	-	-	-	-	(+)	+	++	++	+	++	(+)	+	++	++	+++

(Fortsetzung)

Tab. 15: Topographische Lokalisation der neuronalen Vakuolisierung bei spontaner und experimenteller Vergiftung von Ziegen durch *Ipomoea fistulosa* (n=15)

Ziege	5113	5114	5123	5082	5081	5080	5075	5076	5079	5074	5069	5072	5073	5071	5070	
Dosis (g/kg KM/Tag)	sV	sV	sV	7.5	8.5	6.1	5.7	5.1	13.2	3.7	14.9	5.2	4.7	8.6	14.5	
Todestag				20	30	40	53	53	61	64	70	77	83	88	105	
<b>GEHIRNGEBIETE</b>																
<b>Myelencephalon</b>																
<b>Medulla oblongata</b>																
Formatio reticularis	-	(+)	-	-	-	(+)	+	(+)	+	+	-	(+)	nb	-	++	
Nuc. motorius n. hypoglossi	-	-	-	-	-	-	(+)	-	-	-	-	-	nb	nu	-	
Nuc. intercalatus	-	-	-	-	-	-	(+)	-	-	-	-	-	nb	nu	-	
Nuc. ambiguus	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	nb	(+)	-	
Nuc. parasymphaticus n. vagi et glossopharyngei	-	-	-	-	-	-	(+)	-	-	-	-	-	nb	+	-	
Nuc. tractus solitarii	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nb	-	+	
Nuc. motorius accessorius	-	-	-	-	-	-	(+)	-	-	nu	-	-	nb	-	nu	
Nuc. tractus spinalis n. trigemini	-	+	-	-	-	(+)	+	(+)	+	++	-	-	nb	-	(+)	
Nuc. motorius n. trigemini	-	+	-	-	-	(+)	++	(+)	+	++	-	+	nb	-	++	
Nucc. cochleares	-	-	-	-	-	-	(+)	(+)	(+)	+	-	-	nb	nu	(+)	
Nuc. vestibularis lateralis	-	-	-	-	-	+	++	+	+	+	-	(+)	nb	(+)	++	
Nuc. vestibularis medialis	-	-	-	-	-	(+)	+	-	-	(+)	-	-	nb	(+)	+	
Nuc. vestibularis caudalis	-	-	-	-	-	(+)	+	-	-	-	-	-	nb	(+)	+	
Nuc. motorius n. facialis	-	+	-	-	-	(+)	-	(+)	-	+	-	(+)	nb	(+)	nu	
Nuc. motorius n. abducentis	-	-	-	-	-	nu	(+)	+	-	+	-	-	nb	(+)	+	
Nuc. gracilis	-	-	-	-	-	(+)	+	-	-	-	-	-	nb	(+)	(+)	
Nuc. cuneatus medialis	-	-	-	-	-	-	+	(+)	-	-	-	-	nb	(+)	++	
Nuc. cuneatus lateralis	-	-	-	-	-	(+)	+	-	(+)	(+)	-	-	nb	(+)	++	
Nuc. funiculi lateralis	-	-	-	-	-	(+)	+	-	-	(+)	-	(+)	nb	(+)	+	
Nuc. olivaris accessorius dorsalis	-	++	-	-	++	++	++	++	+	++	-	+++	+++	++	++	
Nuc. olivaris accessorius ventralis	-	++	-	-	+	++	++	++	+	++	-	++	+++	++	++	
<b>Medulla spinalis</b>																
Pars cervicalis	-	+	-	-	-	(+)	+	(+)	-	(+)	-	-	nb	-	++	
Pars thoracica	-	-	-	-	-	(+) / +	(+)	(+)	(+)	(+)	-	(+)	nb	-	+	
Pars lumbalis	-	-	-	-	-	(+)	(+)	-	(+) / +	(+)	-	-	nb	-	++	
Pars sacralis	-	-	-	-	-	(+)	(+)	-	nu	(+)	-	-	nb	-	++	

<sup>1</sup>. nb= nicht beurteilbar; nu= nicht untersucht

Tab. 16: Topographische Lokalisation der axonalen Sphäroide bei spontaner und experimenteller Vergiftung von Ziegen durch *Ipomoea fistulosa* (n=15)

Ziege	5113	5114	5123	5082	5081	5080	5075	5076	5079	5074	5069	5072	5073	5071	5070	
Dosis (g/kg KM/Tag)	sV	sV	sV	7.5	8.5	6.1	5.7	5.1	13.2	3.7	14.9	5.2	4.7	8.6	14.5	
Todestag				20	30	40	53	53	61	64	70	77	83	88	105	
<b>GEHIRNGEBIETE</b>																
<b>Telencephalon</b>																
<b>Cortex cerebri</b>																
C. frontalis	-	-	-	-	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C. parietalis	-	-	-	-	-	-	(+)	-	-	-	-	(+)	-	-	-	-
C. temporalis	-	-	-	-	-	-	(-)	-	-	-	-	(+)	-	-	-	-
<b>Corpus striatum</b>																
Nuc. lentiformis-Pallidum	-	-	-	-	-	-	-	(+)	(+)	-	-	+	+	+	++	
<b>Diencephalon</b>																
<i>Thalamus</i>																
Nuc. medialis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Nuc. lateralis ventralis	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Metathalamus</i>																
Nucc. geniculati	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	-	(+)	-	
<i>Subthalamus</i>																
Zona incerta	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	(+)	
Nuc. subthalamicus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	(+)	
<b>Mesencephalon</b>																
<i>Tectum mesencephali</i>																
Colliculus rostralis	-	-	-	-	-	-	(+)	-	-	-	-	-	nu	+	+	
Colliculus caudalis	-	-	-	-	-	-	(+)	nu	-	-	(+)	nu	-	-	-	
<i>Tegmentum mesencephali</i>																
Substantia grisea centralis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Nuc. tr.mesencephalici n. trigemini	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Nuc.ruber	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Substantia nigra	+	+	+	-	-	(+)	(+)	(+)	+	(+)	+	(+)	+	+	++	
Nuc. lemnisci lateralis	-	-	-	-	-	-	-	nu	-	-	-	+	nu	-	nu	
Nuc. marginalis ped. cereb. rostralis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nu	(+)	-	
<b>Metencephalon</b>																
<b>Pons</b>																
Pars ventralis pontis																
Nucc. pontis	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	-	nu	+	

(Fortsetzung)

Tab. 16: Topographische Lokalisation der axonalen Sphäroide bei spontaner und experimenteller Vergiftung von Ziegen durch *Ipomoea fistulosa* (n=15)

Ziege	5113	5114	5123	5082	5081	5080	5075	5076	5079	5074	5069	5072	5073	5071	5070	
Dosis (g/kg KM/Tag)	sV	sV	sV	7.5	8.5	6.1	5.7	5.1	13.2	3.7	14.9	5.2	4.7	8.6	14.5	
Todestag				20	30	40	53	53	61	64	70	77	83	88	105	
<b>GEHIRNGEBIETE</b>																
<b>Metencephalon</b>																
<b>Cortex cerebelli</b>																
<b>Vermis</b>																
Lobus frontalis																
Lingula	+	-	+++	-	-	-	(+)	(+)	++	-	(+)	+	+	(+)	+++	
Lob. centralis	+	-	+++	-	-	-	(+)	-	++	-	(+)	+	+	+	+++	
Culmen	(+)	-	+++	-	-	-	(+)	(+)	++	-	(+)	+	+	+	+++	
Lobus caudalis																
<b>Vermis</b>																
Declive	+	-	+++	-	-	-	(+)	(+)	++	-	(+)	+	+	++	+++	
Folium vermis	-	-	+	-	-	-	(+)	-	+	-	-	(+)	+	+	+++	
Tuber vermis	-	+	+	-	-	-	(+)	-	(+)	-	(+)	+	+	+	+++	
Pyramis	-	+	+++	-	-	-	(+)	(+)	+	-	(+)	+	+	+	nu	
Uvula	(+)	-	+++	-	-	-	(+)	-	(+)	-	-	(+)	+	-	+++	
<b>Hemispherium cerebelli</b>																
Lob. paramedianus	nu	nu	+	-	-	-	nu	nu	(+)	-	(+)	(+)	nu	(+)	+	
Lob. ansiformis	-	-	+	-	-	-	(+)	-	(+)	-	(+)	(+)	-	(+)	+	
Paraflocculus	-	-	+	-	-	-	(+)	-	-	-	-	(+)	-	(+)	-	
Lobus flocculonodularis																
<b>Vermis</b>																
Nodulus	nu	nu	-	-	-	-	-	nu	(+)	(+)	-	-	(+)	-	++	
<b>Hemispherium cerebelli</b>																
Flocculus	-	-	+	-	-	-	-	(+)	+	-	(+)	-	+	(+)	+	
<b>Nucc. cerebelli</b>																
Nuc. fastigii	++	+	(+)	(+)	-	++	++	++	+	++	++	++	+++	++	+	
Nuc. interpositus cerebelli	++	+	+	(+)	+	++	++	++	++	++	++	++	+++	++	++	
Nuc. lateralis cerebelli	+	-	+	-	-	(+)	++	+	++	+	++	+	++	++	++	

(Fortsetzung)

Tab. 16: Topographische Lokalisation der axonalen Sphäroide bei spontaner und experimenteller Vergiftung von Ziegen durch *Ipomoea fistulosa* (n=15)

Ziege	5113	5114	5123	5082	5081	5080	5075	5076	5079	5074	5069	5072	5073	5071	5070	
Dosis (g/kg KM/Tag)	sV	sV	sV	7.5	8.5	6.1	5.7	5.1	13.2	3.7	14.9	5.2	4.7	8.6	14.5	
Todestag				20	30	40	53	53	61	64	70	77	83	88	105	
<b>GEHIRNGEBIETE</b>																
<b>Myelencephalon</b>																
<b>Medulla oblongata</b>																
Nuc. tractus solitarii	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	-	
Nuc. tractus spinalis n. trigemini	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	++	
Nucc. cochleares	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nu	(+)	
Nuc. vestibularis lateralis	+	(+)	+	-	-	(+)	+	+	+	++	+ / ++	++	+	+	(+)	
Nuc. vestibularis medialis	-	-	-	-	-	-	-	+	-	(+)	-	-	-	+	-	
Nuc. vestibularis caudalis	-	-	-	-	-	-	-	(+)	-	-	-	-	-	(+)	+	
Nuc. gracilis	+	-	-	-	-	-	-	(+)	-	-	++	-	-	+	-	
Nuc. cuneatus medialis	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	++	-	++	+	++	
Nuc. cuneatus lateralis	-	(+)	-	-	-	-	++	(+)	-	(+)	++	++	++	+	++	
Nuc. funiculi lateralis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	-	-	-	-	+	
Nuc. olivaris accessorii dorsalis	+	++	-	-	-	-	-	-	(+)	-	+	++	++	(+)	-	
Nuc. olivaris accessorii ventralis	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	++	-	(+)	++	
<b>Medulla spinalis</b>																
Pars cervicalis	-	-	-	-	-	-	- / (+)	- / (+)	-	-	-	-	-	-	-	
Pars thoracica	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	- / (+)	- / (+)	-	-	- / +	
Pars lumbalis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	- / (+)	-	- / (+)	-	-	- / +	
Pars sacralis	+	-	-	-	-	-	- / (+)	-	nu	- / (+)	- / +	- / (+)	-	-	- / ++	

Tab. 17: Proliferation der Bergmann-Glia im *Cortex cerebelli* bei spontaner und experimenteller Vergiftung von Ziegen durch *Ipomoea fistulosa* (n=15)

Ziege	5113	5114	5123	5082	5081	5080	5075	5076	5079	5074	5069	5072	5073	5071	5070
Dosis (g/kg KM/Tag)	sV	sV	sV	7.5	8.5	6.1	5.7	5.1	13.2	3.7	14.9	5.2	4.7	8.6	14.5
Todestag				20	30	40	53	53	61	64	70	77	83	88	105
<b>GEHIRNGEBIETE</b>															
<b>Metencephalon</b>															
<b>Cortex cerebelli</b>															
<b>Vermis</b>															
Lobus frontalis															
Lingula	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	++
Lob. centralis	-	-	+++	-	-	-	++	-	+	+	+	+	-	+	++
Culmen	-	-	+++	-	-	+	++	+	+	+	++	+	-	+	++
Lobus caudalis															
<b>Vermis</b>															
Declive	-	-	+++	-	-	+	++	+	++	++	+	+	-	+	++
Folium vermis	-	-	+	-	-	-	++	+	++	-	+	(+)	-	+	++
Tuber vermis	-	-	++	-	-	-	+	-	-	-	+	(+)	-	-	++
Pyramis	-	-	+++	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	++
Uvula	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	(+)	-	+	++
<b>Hemispherium cerebelli</b>															
Lob. paramedianus	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Lob. ansiformis	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-
Paraflocculus	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Lobus flocculonodularis															
<b>Vermis</b>															
Nodulus	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Hemispherium cerebelli</b>															
Flocculus	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-

**Tab. 18: Lektinhistochemische Darstellung der Vakuolenmembranen in den verschiedenen Organen bei experimenteller Vergiftung von Ziegen durch *Ipomoea fistulosa***

Organen	Zellen	PNA	BS-I	Con-A	DBA	SBA	LCA	RCA	WGA	S-WGA	UEA-I
ZNS	Neuronen	-	-	+++	-	-	+++	-	+++	+++	-
	Gliazellen	-	-	-	-	-	+++	-	+++	+++	-
	Perivaskuläre Zellen	+++	-	+++	-	-	+++	-	+++	+++	-
PNS	Ganglienzellen	-	-	+++	-	-	-	-	+++	-	-
	Schwannzellen	-	-	+++	-	-	-	-	+++	+++	-
Pankreas	Azinuszellen	-	-	+++	-	-	+	-	+++	-	-
Leber	Hepatozyten	-	-	(+)	-	-	(+)	-	++	-	-
	Kupffer-Zellen	-	-	+++	-	-	+	+++	+++	-	-
Schilddrüse	Follikelepithelzellen	-	-	+++	-	-	-	-	+++	-	-
Lymphknoten	Lymphblasten	-	-	-	-	-	-	+++	-	-	-
	Makrophagen	-	-	+++	-	-	-	+	++	-	-
Niere	Tubulusepithel	++	-	+++	-	-	-	-	+++	+	-
Herz	Endomysium	-	-	+++	-	-	-	-	+++	-	-

**Tab 19: Elektronenmikroskopisch erkennbare zytoplasmatische Vakuolisierung in der *Declive* des *Cortex cerebelli* bei experimenteller Vergiftung von Ziegen durch *Ipomoea fistulosa* (n=5)**

Ziege		5081	5080	5075	5074	5069
Dosis (g/kg KM/Tag)		8.5	6.1	5.7	3.7	14.9
Todestag		30	40	53	64	70
<b>Cortex cerebelli</b>	<b>Zellen / Struktur</b>					
Stratum moleculare	Sternzellen	- / +	+ / ++	+ / ++	+ / ++	-
	Korbzellen	+ / ++	+++	+ / +++	++ / +++	-
	Parallelfasern	-	-	(+)	-	-
	Purkinjezellendendriten	-	-	(+)	(+)	-
	Kletterfasen	-	-	(+)	(+)	-
	Korbzellenaxone	-	-	(+)	(+)	-
	Bergmann-Glia	-	-	+	+	-
Stratum neuronium piriformium	Purkinjezellen	++	+++	+++	+++	-
Stratum granulosum	Körnerzellen	-	(+)	+	(+)	-
	Große Golgizellen	-	+++	+++	+++	++
	Kleine Golgizellen	-	+++	+++	++	-
	Horizontalzellen	-	+++	+	++	-
Substantia alba	Axone	-	-	+	-	-

**Tab 20: Elektronenmikroskopisch erkennbare axonale Degeneration in der *Declive* des *Cortex cerebelli* bei experimenteller Vergiftung von Ziegen durch *Ipomoea fistulosa* (n=5)**

Ziege		5081	5080	5075	5074	5069
Dosis (g/kg KM/Tag)		8.5	6.1	5.7	3.7	14.9
Todestag		30	40	53	64	70
<b>Cortex cerebelli</b>	<b>Zellen / Struktur</b>					
Stratum moleculare	Parallelfasern	-	(+)	(+)	(+)	-
	Purkinjezellendendriten	-	(+)	+++	+++	(+)
	Kletterfasern	-	-	+	+	-
	Korbzellenaxone	-	(+)	+	+	+
Stratum granulare	Purkinjezellaxone	+	+	+++	+++	+
	Glomerulus cerebellosus	-	-	+	+	-
	Moosfasern-Rosette	-	-	+	+	-
Substantia alba	Axone	(+)	(+)	nu	+++	-

## 9 LÖSUNGEN, PUFFER, BEZUGSQUELLEN

### 9.1 Lösungen und Puffer

#### 9.1.1 Immunfärbung

##### **Diaminobenzidin-tetrahydrochlorid-Lösung (DAB)**

100mg DAB in 200ml 0,1 M Imidazol/HCl Puffer, pH 7,1 lösen und mischen (Magnetrührer), anschließend filtrieren und 70µl H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30%) zugeben.

##### **0.1 M Imidazol/HCl Puffer**

6.81g Imidazol reinst mit Aqua dest. auf 1000ml auffüllen und etwa 500ml 0,1 M HCl zufügen (bis pH 7,1 erreicht ist).

##### **Papanicolaou-Lösung**

Papanicolaou-Lösung und Aqua dest. im Verhältnis 1:20 mischen und filtrieren (Whatman Filter 1).

##### **Tris-buffered saline (TBS), pH 7,6**

Stammlösung (10x):

60,75 g Tris(hydroxymethyl)-aminomethan

610 ml Aqua dest.

etwa 390 ml 1N HCl (Tritrisol®) bis pH 7,6 erreicht ist.

Gebrauchslösung:

100 ml Stammlösung

900 ml NaCl 0,8% in Aqua dest.

##### **Phosphate buffered saline (PBS) pH 7,4**

21,76 g NaCl krist.

3,592 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 2x H<sub>2</sub>O p.a.

0,544 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> p.a.

2420 ml H<sub>2</sub>O dest.

#### 9.1.2 Transmissionselektronenmikroskopie

##### **Cacodylatpuffer 0,166 M (340 mOsmI), pH 7,45**

35,324 g Cacodylsäure Na-Salz Trihydrat

96 ml HCl 0,1 M

Aqua dest. ad 1000 ml

Einstellen des pH-Wertes mit 1 N HCl. Aufbewahren bei 4°C.

**Glutaraldehydlösung 3 %**

35,324 ml Glutaraldehyd 25%

96 ml Cacodylatpuffer 0,166 M

Vor Gebrauch frisch ansetzen.

**Osmiumtetroxidlösung 1%**

500 mg OsO<sub>4</sub>- Kristalle

50 ml Cacodylatpuffer 0,166 M

Lösung in lichtundurchlässiger, fest verschlossener Flasche im Dunkeln bei 4°C aufbewahren.

**Epon<sup>®</sup>-Mischung ohne Beschleuniger**

8,1 ml Epon 812<sup>®</sup>

5,0 ml Epon Härter, DDSA

4,45 ml Epon Härter, MNA

17,55 ml Ethanol p.a.

Mischung etwa 15 min vor dem Auftragen herstellen und auf dem Magnetrührer mischen.

**Epon<sup>®</sup>-Mischung mit 2% Beschleuniger**

8,1 ml Epon 812<sup>®</sup>

5,0 ml Epon Härter, DDSA

4,45 ml Epon Härter, MNA

0,375 ml Beschleuniger DPM-30

Mischung etwa 15 min vor dem Auftragen herstellen und auf dem Magnetrührer mischen.

**Uranylazetatlösung 11%**

1,1 g Uranylazetat

10 ml Aqua bidest.

Bei Temperatur von etwa 60°C auflösen und in einem dunklen Gefäß bei 4°C aufbewahren. Innerhalb weniger Tage verbrauchen. Vor Gebrauch mit Millipore-Filter (0,22µm) filtrieren.

**Bleizitratlösung 0,4 %**

0,04 g Bleizitrat-trihydrat

10 ml Aqua bidest.

Bei Temperatur von etwa 60°C lösen und in einem dunklen Gefäß bei 4°C aufbewahren. Innerhalb weniger Tage verbrauchen. Vor Gebrauch mit Millipore-filter (0,22µm) filtrieren.

**9.2 Bezugsquellen****9.2.1 Chemikalien****Electron Microscopic Sciences, Washington, USA**

Glutaraldehyd 25% solution, 16210

**Fluka AG, Buchs, Ch**

Epon 812®, 45345

Epon Härter, DDSA, 45346

Epon Härter, MNA, 45347

**Fluka Feinchemikalien GmbH, Neu Ulm**

3,3-Diaminobenzidin-tetrahydrochlorid (DAB) purum p.a., 32750

Imidazol, 56750

**I. Hecht, Kiel-Hassee**

Eukitt® (Corbit-Balsam)

**E. Merck, Darmstadt**

Aceton, reinst, 13

Eosin, gelblich, 1345

Formaldehydlösung, mind. 37% säurefrei, 3999

Hämatoxylin, 4305

Methanol, reinst, 6008

Methylenblaulösung, 1287

Natriumchlorid krist., einst, 6404

Papanicolaou Lösung 1b, 9254

Perhydrol 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 7210

2-Propanol (Isopropylalkohol), reinst, 8995

Salzsäure, (Titrisol®) 1Mol/l, 997

Tris (Hydroxymethyl)-aminomethan (LAB), 8389

Uranylacetat, 8473

### **Carl Roth KG, Chemische Fabrik, Karlsruhe**

Cacodylsäure Na-Salz Trihydrat, 5169

Osmium (VIII) Oxid, 8371

Roti-Histol®, 6640

### **Serva Feinbiochemika GmbH und Co., Heidelberg**

Bleizitrat-trihydrat, 15158

Ethylenmercuri-thiosalicylsäure Na-Salz (Methiolat) pharm. 77018

### **Sherwood Medical Industries, St. Louis, Mi, USA**

Paraplast® Erstarr.-P. 56-57°, HRI 8888-501006

## **9.2.2 Antiserum**

### **Schachthof Gießen**

Schweineblut

### **Veterinärklinik I der Justus-Liebig-Universität Gießen**

Pferdeserum

**10 LISTE DER VERWENDENTEN ABKÜRZUNGEN**

<b>Abb.</b>	Abbildung
<b>ABC</b>	Avidin-Biotin-Komplex
<b>BA</b>	Bahia
<b>BS-I</b>	<i>Bandeira simplicifolia</i>
<b>Con-A</b>	<i>Concanavalia ensiformis</i>
<b>DAB</b>	Diaminobenzidin-tetrahydrochlorid-Lösung
<b>DBA</b>	<i>Dolichos biflorus</i>
<b>EMBRAPA</b>	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
<b>FAO</b>	Food and Agriculture Organization
<b>Fuc</b>	Fucose
<b>g</b>	Gramm
<b>GABA</b>	gamma Aminobuttersäure
<b>GAD</b>	Glutaminsäuredecarboxylase
<b>Gal</b>	Galaktose
<b>GalNAc</b>	<i>N</i> -Acetylgalaktosamin
<b>GFAP</b>	Säures Gliafaserprotein (glia fibrillary acidic protein)
<b>Glc</b>	Glukose
<b>GlcNAc</b>	<i>N</i> -Acetylglukosamin
<b>H.E.</b>	Hämatoxylin-Eosin
<b>IBGE</b>	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
<b>kg</b>	Kilogramm
<b>KM</b>	Körpermasse
<b>LCA</b>	<i>Lens culinaris</i>
<b>Man</b>	Mannose
<b>NeuNAc</b>	<i>N</i> -Acetylneuraminsäure
<b>NF</b>	Neurofilament
<b>nu</b>	nicht untersucht
<b>nb</b>	nicht beurteilbar
<b>Nuc.</b>	Nucleus
<b>Nucc.</b>	Nuclei

<b>PE</b>	Pernambuco
<b>PNA</b>	<i>Arachis hypogea</i>
<b>RCA</b>	<i>Ricinus communis</i>
<b>rER</b>	rauhes endoplasmatisches Retikulum
<b>RJ</b>	Rio de Janeiro
<b>SBA</b>	<i>Glycine max</i>
<b>S-WGA</b>	<i>Succinyl-Triticum vulgare</i>
<b>Tab.</b>	Tabelle
<b>TBS</b>	Tris-buffered saline
<b>UEA-I</b>	<i>Ulex europeus</i>
<b>UFRRJ</b>	Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
<b>WGA</b>	<i>Triticum vulgare</i>
<b>ZNS</b>	Zentrales Nervensystem

## Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. K. Frese für die Annahme des von Herrn Prof. Dr. C. H. Tokarnia (Departamento de Nutrição Animal e Plantas Tóxicas, IZ, UFRRJ, Brasilien) überlassenen Themas und seine stets freundliche gewährte kritische und konstruktive Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit. Ich möchte mich bei ihm dafür bedanken, daß er mir trotz des teilweise klippenreichen spanisch-portugiesisch-deutschen Sprach- und Gedankenaustausches immer ein Ansprechpartner und sein Wissen zu vermitteln bereit war.

Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. em. E. Weiss danke ich herzlich für die Ermöglichung meines Aufenthaltes am Institut für Veterinär-Pathologie der Justus-Liebig-Universität Gießen sowie für die Unterstützung bei meiner weiteren Ausbildung insbesondere in der Elektronenmikroskopie.

Frau Prof. Dr. I. Käufer-Weiss danke ich für die kritische Durchsicht des Manuskriptes und für die Unterstützung bei meiner Ausbildung.

Den Herren Prof. Dr. E. Burkhardt, Prof. Dr. W. Baumgärtner Ph.D und AOR Dr. H. Frank danke ich für die freundliche Unterstützung bei meiner Ausbildung und für zahlreiche Erklärungen und Hinweise in der Diagnostik.

Herrn Prof. Dr. M. Reinacher danke ich für die Unterstützung bei meinen Vorträgen und der Posterpräsentation auf Kongressen.

Herrn Prof. Dr. G. Hummel aus dem Institut für Anatomie des Fachbereiches Veterinärmedizin gilt mein Dank für die Beratung und für die freundliche Unterstützung bei meiner Ausbildung in Neuroanatomie.

Herrn Prof. Dr. R. Geyer aus dem Institut für Biochemie des Fachbereiches Humanmedizin danke ich für die kritische Durchsicht des Manuskriptes.

Herrn Dr. K. Failing von der AG Biomathematik und Datenverarbeitung danke ich für die statistische Aufarbeitung.

Herrn Dr. M. Kramer aus der Chirurgischen Veterinärklinik danke ich für seine Beratung und die kritische Durchsicht des Manuskriptes bezüglich der neurologischen Untersuchung

Herrn Dr. h.c. J. Döbereiner vom Convênio Sanidade Animal, EMBRAPA/UFRRJ danke ich herzlich für die Ermöglichung meines Aufenthaltes in Brasilien, für seine Hilfsbereitschaft und für die vielfältige Unterstützung.

Herrn Prof. Dr. P. V. Peixoto vom Departamento de Nutrição Animal e Plantas Tóxicas, IZ, UFRRJ danke ich sehr für die wertvollen Anregungen, für die vielen interessanten Diskussionen, für die Unterstützung bei der in Brasilien durchgeführter Untersuchungen,

für seine langjährige Freundschaft und, vor allem, für die Promotionsbewerbung am Institut für Veterinär-Pathologie der Justus-Liebig-Universität Gießen bei Herrn Prof. Dr. K. Frese.

Bei Frau Dr. S. Alldinger und Frau Dr. A. Kipar möchte ich mich sehr herzlich für vielfältige Hilfsbereitschaft und für die wertvollen Tips bedanken.

Bei Frau A. Nesslerer, Frau G. Schmitz, Frau A. Heuser und Frau I. Langohr möchte ich mich sehr herzlich für die Hilfestellungen bei der Anfertigung der deutsch-sprachigen Fassung dieser Arbeit bedanken.

Frau S. Krauskopf danke ich herzlich für die Präzision bei der Anfertigung der Paraffinschnitte des ZNS.

Frau A. Artelt gilt mein herzlicher Dank für die hervorragenden Hilfe bei den immunhistochemischen Arbeiten.

Frau U. Zeller danke ich für die perfekte Durchführung der fotografischen Arbeiten.

Frau Dr. T.-M. Leal vom CPATSA-EMBRAPA, Petrolina-PE, danke ich für die Unterstützung bei der Datenerhebung zu der spontanen Vergiftung.

Herrn Antonio vom CPATSA-EMBRAPA danke ich für die Führung in der Halbwüste von Petrolina-PE und Juazeiro-BA sowie für die Unterstützung bei der Datenerhebung und Untersuchungen der spontan vergifteten Ziegen.

Herrn João-Luís Bastos und Herrn José-Carlos Beata da Cruz vom Convênio Sanidade Animal, EMBRAPA/UFRRJ möchte ich hier meinen Dank für ihre vielseitige hervorragende Hilfestellung in der Durchführung der experimentellen Arbeit und für ihre ehrliche und bedingungslose Freundschaft zum Ausdruck bringen.

Herrn Wilson Fonseca und Herrn Nicodemus „Tutuca“ vom Convênio Sanidade Animal, EMBRAPA/UFRRJ danke ich für die Perfektion in der Anfertigung der Paraffinschnitte.

Herrn Zé „Galinha“, Herrn Joberto und Herrn Gilberto vom Convênio Sanidade Animal, EMBRAPA/UFRRJ danke ich herzlich für die tägliche, immer effektive Sammlung der Pflanze, die unter sehr schwierigen Bedingungen stattfand.

Allen namentlich nicht aufgeführten Freunden, Kollegen und MTA möchte ich meinen Dank für die hervorragende Arbeitsatmosphäre ausdrücken.

Zum Schluß danke ich Chela, Niña, Nêca und Alice für alles....